

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Adéla Navrátilová

Role myeloidních dendritických buněk u alergických onemocnění
The role of myeloid dendritic cells in allergic diseases

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.

Praha, 2017

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Jiřímu Hrdému, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a vstřícný přístup při vypracování bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za jejich podporu a pomoc.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11.05.2017

Podpis

Abstrakt

Dendritické buňky (DC) hematopoetického původu lze rozlišit na buňky pocházející z myeloidní (mDC) a lymfoidní linie. DC obou větví jsou schopné pohlcovat antigeny, jejich vzorky předkládat T-lymfocytům a polarizovat imunitní odpověď. DC lymfoidní linie jsou specializované na boj s viry a jsou důležitým zdrojem interferonu alfa. MDC, které s antigeny přicházejí do styku jako jedny z prvních buněk, mají důležitou úlohu v alergiích, které jsou aktuálním problémem. Alergie je definovaná jako nepřiměřená imunitní odpověď na neškodné antigeny vnějšího prostředí a mezi nejčastější alergická onemocnění patří astma, alergická rýma, atopická dermatitida a potravinové alergie. Tato práce se zaměřuje na roli mDC v patogenezi alergických onemocněních a jejich možné využití při léčbě. Dále tato práce popisuje rozdíly mezi zdravými a alergickými jedinci z hlediska funkčních změn mDC a na rozdíly mezi zralým a nezralým imunitním systémem.

Klíčová slova: dendritické buňky, alergická onemocnění, cytokiny, novorozenecký imunitní systém

Abstract

Dendritic cells (DC) of hematopoietic origin can be distinguished into cells originating from the myeloid (mDC) or lymphoid lineage. DCs of both branches are able to uptake the antigens, present their samples to T-lymphocytes and polarize the immune response. Lymphoid line DCs are specialized in fighting viruses and they are an important source of interferon alpha. MDCs, which engage antigens as one of the first cells, play an important role in allergies, which are a current problem. Allergy is defined as an inadequate immune response to environmentally nonharmful antigens, and asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis and food allergy are among the most common allergic diseases. This work focuses on the role of mDC in the pathogenesis of allergic diseases and their possible use in treatment. Furthermore, this paper describes the differences between healthy and allergic individuals in terms of functional changes of mDC and differences between mature and immature immune system.

Key words: dendritic cells, allergic diseases, cytokines, newborn immune system

Obsah

Seznam zkratk	i
1 Úvod	1
2 Dendritické buňky a jejich vlastnosti	2
2.1 Úloha DC	2
2.2 Maturace	3
3 Dělení DC	4
3.1 Myeloidní DC	4
3.2 Langerhansovy buňky	5
3.3 Plazmacytoidní DC	5
3.4 Folikulární DC	5
4 Rozpoznání a povrchový fenotyp mDC	6
5 Kultivace mDC	11
6 Alergie	11
7 Alergická onemocnění	14
7.1 Astma	14
7.2 Alergická rýma	14
7.3 Potravinová alergie	15
7.4 Atopická dermatitida	15
8 Úloha dendritických buněk v alergii	16
8.1 Interakce DC a epitelových buněk	19
9 Rozdíl mezi imunitním systémem dětí a dospělých	22
10 Alergici versus zdraví z pohledu proporčního zastoupení a funkčních vlastností DC	23
11 Terapeutické využití DC při léčbě alergií	23
12 Závěr	26
13 Seznam použité literatury	28

Seznam zkratk

AD	atopická dermatitida
AHR	hyperreaktivita dýchacích cest (z angl. airway hyperresponsivity)
APC	buňka předkládající antigen (z angl. antigen-presenting cell)
AR	alergická rýma
BDCA	antigen dendritické buňky (z angl. blood dendritic cell antigen)
BECs	epiteliální buňky bronchů (z angl. bronchial epithelial cells)
CCL	C-C chemokinový ligand
CCR	C-C chemokinový receptor
CD	diferenciační skupina (z angl. cluster of differentiation)
CpG	DNA sekvence bohatá na C následované G
CTLA-4	s T-lymfocyty as. protein 4 (z angl. cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4)
CXCL	chemokin
DAMP	molekulární vzory spojované s nebezpečím (z angl. damage associated molecular patterns)
DC	dendritická buňka
DC-LAMP	Dendritic cell-lysosomal associated membrane protein
DC-SIGN	intracelulární adhezivní molekula specifická pro dendritické buňky (z angl. dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin)
Der p 1	alergen domácího prachu izolovaný z roztoče <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
EE	eosinofilová esofagitida
FcαR	receptor pro imunoglobulin A
FcεRI	vysokoafinní receptor pro imunoglobulin E
FcγR	receptor pro imunoglobulin G
FcR	receptor vázající Fc oblast imunoglobulinu
Flt3	tyrozinkinázový receptor Flt3 (z angl. fms like tyrosine kinase 3)
GATA-3	transkripční faktor vázající se na DNA sekvenci GATA
GIT	gastrointestinální trakt
GM-CSF	růstový faktor pro granulocyty a monocyty (z angl. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)
HDM	bytový prach způsobený roztoči (z angl. house dust mite)
IDO	enzym metabolizující tryptofan (z angl. indolamine 2,3-dioxygenase)
IFN-γ	interferon gama
IgA	imunoglobulin A

IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IL	interleukin
IL-R	receptor pro interleukin
infDC	dendritické buňky odvozeny z monocytů (z angl. inflammatory dendritic cell)
ITAM	aktivační doména receptoru (z angl. immunoreceptor tyrosine-based activation motif)
ITIM	inhibiční doména receptoru (z angl. immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif)
ldDC	málo diferencované populace DC (z angl. less differentiated DC)
LPS	lipopolysacharid
mDC	myeloidní dendritické buňky
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (z angl. major histocompatibility complex)
MR	manosový receptor
NF- κ B	transkripční faktor kappa B (z angl. nuclear factor κ B)
NK-T	T-lymfocyty s vlastnostmi NK buněk (natural killer T-cell)
NLR	intracelulární senzory nebezpečí (z angl. nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors)
OX40	receptor 4 pro ze skupiny receptorů pro tumor-nekrotizující faktor
OX40L	ligand receptoru OX40
P2X ₇ R	purinergní receptor pro ATP
PAR-2	receptor aktivovaný proteolytickým štěpením (z angl. protease-activated receptor-2)
PAR	permanentní alergická rýma (z angl. perennial allergic rhinitis)
PD1-L	ligand spouštěcí apoptózu buňky (z angl. programmed cell death protein 1- ligand)
pDC	plazmacytoidní dendritické buňky
RelB	transkripční faktor NF- κ B skupiny
SAR	sezónní alergická rýma (z angl. seasonal allergic rhinitis)
TCR	T-buněčný receptor (z angl. T-cell receptor)
TGF- β	transformující růstový faktor (z angl. transforming growth factor β)
Th	pomocné T-lymfocyty (z angl. T-helper)
TLR	receptory skupiny Toll (z angl. toll-like receptor)
TNF- α	faktor nádorové nekrózy α (z angl. tumor necrosis factor α)
Treg	regulační T-lymfocyty
Trp	tryptofan
TSLP	thymický stromální lymfopoietin (z angl. thymic stromal lymphopoietin)

1 Úvod

Lidský organismus se denně setkává s velkým množstvím látek, které se přirozeně vyskytují v prostředí. Úkolem imunitního systému je rozpoznat a vyhodnotit tyto látky jako neškodné nebo tělu škodlivé. U alergických reakcí organismus reaguje i na antigeny vnějšího prostředí, které rozpoznává jako nebezpečné a výsledným jevem je patologická reakce. Antigeny vyvolávající alergickou reakci se označují jako alergeny. Alergická odpověď je řízena T- a B-lymfocyty, které prostřednictvím imunoaktivních látek působí na hlavní efektorové buňky – mastocyty a bazofily. V této odpovědi mají svou úlohu i dendritické buňky.

Dendritické buňky řadíme mezi leukocyty, jejichž úkolem je pohlcovat antigeny, zpracovat je a fragmenty těchto antigenů předložit T-lymfocytům. Hrají důležitou roli při iniciaci odpovědi získané imunity a propojují nespecifickou a specifickou složku imunitního systému.

Průzkumy z posledních desetiletí popisují zvýšený výskyt alergických patologií v různých formách a projevech. Mezi nejčastější alergické projevy můžeme zařadit patologie postihující respirační systém, včetně alergické rýmy a astma, dále patologie postihující gastrointestinální trakt, potravinové alergie nebo kožní patologie jako je atopický ekzém nebo kopřivka.

V současné době se odhaduje, že více než 20% světové populace trpí alergickými onemocněními a chronické alergické projevy jsou nejčastějšími příčinami hospitalizace dětí v západním světě (WHO, 2002). V posledních 15 letech byl zaznamenán narůstající počet případů s potravinovou alergií (Prescott et al., 2013). Stále více lidí se stává senzitivnějšími na alergeny z prostředí a trendy jsou takové, že počet lidí s alergiemi bude v následujících letech i nadále přibývat. (WHO, 2007; WHO, 2002)

Cílem této bakalářské práce je shrnout poznatky o dendritických buňkách se speciálním zaměřením na jejich úlohu v patogenezi alergických onemocnění a jejich potenciálnímu využití při terapeutických postupech vedoucích ke snížení klinické závažnosti projevů alergických onemocnění.

2 Dendritické buňky a jejich vlastnosti

Dendritické buňky (DC, z angl. dendritic cells) byly poprvé popsány na myším modelu v periferních lymfatických orgánech (Steinman & Cohn, 1974). Tato populace leukocytů má důležitou roli v propojení vrozené a získané imunity, ale mimo to je také předurčená k detekci cizorodého materiálu, infekce a tkáňového poškození. Vyznačují se výkonnou fagocytickou aktivitou a zpracováním pohlcených molekul, prezentací částí těchto antigenů a v neposlední řadě sekrecí imunomodulačních látek jako jsou např. cytokiny. Výsledkem zpracování pohlcených molekul jsou peptidové vzorky proteinů, které jsou vystavovány na MHC (z angl. major histocompatibility complex) glykoproteinech na povrchu DC.

2.1 Úloha DC

Dendritické buňky jsou jedny z nejúčinnějších buněk předkládajících antigen (APC, z angl. antigen presenting cell), které mají za úkol informovat a směřovat k odpovědi buňky získané imunity a to zejména B a T-lymfocyty. Toto směřování má různé výsledky - indukce imunitní odpovědi nebo navození tolerance proti těmto antigenům (Lanzavecchia & Sallusto, 2001). Přijetí antigenu dendritickou buňkou umožňuje její aktivaci a maturaci, která je důležitá pro následnou účinnou interakci s T-lymfocyty. Takové zrající DC se přesouvají do lymfatických uzlin plnit svůj hlavní úkol. Bližší popis charakteristiky zralých i nezralých DC je uveden níže.

Nezralé formy DC se vyskytují v periferních tkáních, kde za běžného stavu organismu pohlcují opotřebované nebo odumřelé buňky a peptidy předkládají ke kontrole. Tímto způsobem zajišťují toleranci vůči autoantigenům. Internalizace molekul, které budou později vystavovány na MHCII, se odehrává pomocí fagocytózy, makropinocytózy nebo endocytózou zprostředkovanou manosovým receptorem (MR) (Sallusto & Lanzavecchia, 1994). Na MHCII jsou obecně prezentovány antigeny pocházející z vnějšího prostředí, kdežto na MHCI jsou vystavovány antigeny z vnitřního prostředí buňky. V případě maligních buněk či buněk infikovaných viry mohou být těmito antigeny různě transformované či fúzní proteiny nebo fragmenty proteinů pocházejících z virů.

DC jsou efektivní v zachytávání antigenů pocházejících z okolního prostředí, a proto je jejich umístění v tkáních na rozhraní vnitřního a vnějšího prostředí organismu klíčové. Do takových tkání můžeme zařadit například kožní epitel, epitel dýchacích cest nebo gastrointestinální trakt (GIT).

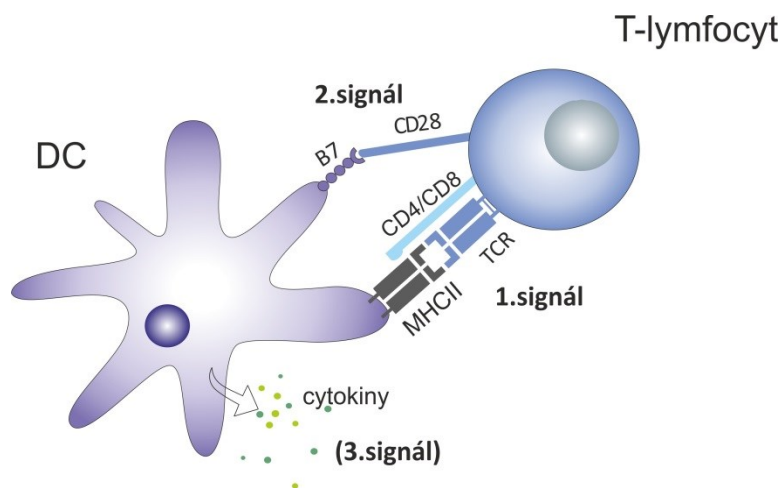
Po rozpoznání struktury přítomné u určité skupiny patogenů, či patogenních produktů nebo buněk s nekrotickými změnami pomocí receptorů přítomných na DC se spustí proces maturace DC (receptory uvedeny v kapitole 4).

2.2 Maturace

Maturace je nevratný proces a trvá přibližně dva dny. DC během ní procházejí mnoha změnami. Zvyšuje se motilita, přestavuje se cytoskelet, buňky ztrácí endocytickou aktivitu (Steinman, Steinman, Swanson, & Swanson, 1995) a intenzivně exprimují adhezivní, kostimulační molekuly a MHC I a II naložené peptidy.

Dozrávající DC exprimují receptor CCR7 (z angl. C-C chemokine receptor), který má dva ligandy: chemokiny CCL19 (z angl. C-C motif ligand) a CCL21. Tyto chemokiny jsou produkovány sekundárními lymfatickými orgány (např. lymfatickými uzlinami) a po jejich gradientu se zrající DC přesouvají. V těchto lymfatických orgánech DC zprostředkovávají aktivační signály pro zrání naivních $CD4^+$ nebo $CD8^+$ T-lymfocytů.

Pro účinnou aktivaci T-lymfocytů jsou kritické dva dílčí body v signalizaci: imunologická synapse mezi molekulami MHC I/II na povrchu DC a TCR (z angl. T-cell receptor) T-lymfocytu jako první signál (Qi, Groves, & Chakraborty, 2001) a druhý kostimulační signál, bez něhož by vývoj T-lymfocytu vedl k apoptóze nebo anergii. Někdy je uváděn třetí signál, který představuje cytokinové mikroprostředí podílející se na polarizaci imunitní odpovědi. Efektivitu signalizace ovlivňují faktory jako je počet MHC prezentujících peptid, hladina koreceptorů a celková stabilita synapse. Mezi povrchové kostimulační receptory DC patří molekuly CD80 (z angl. cluster of differentiation) a CD86, někdy také označované jako molekuly B7 skupiny (Caux et al., 1994). Pokud tyto B7 molekuly reagují s receptorem CD28 naivních T-lymfocytů (zmiňovaný druhý signál), spustí se imunitní odpověď, která vyústí k proliferaci a vzniku efektorových a paměťových T-lymfocytů. Tento děj je znázorněn na **Obrázku 1**.



Obrázek 1 Schéma interakce mezi DC a T-lymfocytem

Aktivované DC mohou sekretovat cytokiny, které směřují naivní $CD4^+$ T-lymfocyty k polarizaci na Th1 (z angl. T helper), Th2 nebo Th17 typ odpovědi. Th1 odpověď zajišťuje obranu proti virům a intracelulárním patogenům a je podporována produkcí IL-12, kdežto Th2 odpověď se uplatňuje při obraně proti extracelulárním parazitům a helmintům a aktivaci B-lymfocytů a je modulována IL-4.

DC mohou indukovat i jiné typy T-lymfocytů, jako již zmiňované Th17 nebo Treg (z angl. T regulatory cell). Th17 slouží k obraně proti extracelulárním parazitům a houbám a jsou indukované DC pocházejícími z monocytů, tzv. zánětlivými DC (infDC, z angl. inflammatory dendritic cell). Th17 buňky sekretují pro ně charakteristický IL-17 a stimulují prozánětlivou reakci (shrnutí v Segura et al., 2008). Skupina cytokinů IL-17 má šest členů (A-F), z nichž hlavní zástupce IL-17A sdílí přibližně 50% strukturní podobnost s IL-17F a nepřímě se podílí na regulaci průběhu zánětu a atrakci neutrofilů do zánětlivého místa (např. u pacientů se zvýšenou dráždivostí dýchacích cest) (Barczyk, Pierzcha, & Sozańska, 2003). Jejich efekt je spojován i s mnoha autoimunitními onemocněními (Arican, Aral, Sasmaz, & Ciragil, 2005; Fujino et al., 2003). IL-17B a IL-17C stimulují produkci IL-1 β a TNF- α monocytů (Li et al., 2000) a IL-17E, jinak také IL-25, má schopnost indukovat produkci cytokinů asociovaných s Th2 odpovědí (účinky tohoto cytokinu jsou diskutovány v kapitole 8.1).

Treg jsou $CD4^+$ $CD25^+$ lymfocyty charakteristické expresí transkripčního faktoru FoxP3 (z angl. forkhead box P3). Mohou být indukované ve tkáních za pomoci DCs nebo vznikat v thymu. Jejich interakce s DC a sekrece IL-10 a TGF- β je důležitá pro ustavení tolerance vůči antigenům. Tento fenomén je blíže uveden v kapitole 4.

3 Dělení DC

V lidské krvi byly identifikovány DC ze dvou odlišných zárodečných linií - buňky myeloidního a lymfoidního původu. Myeloidní linii zastupují dvě subpopulace $CD11c^+$ buněk – $CD1c$ (BDCA-1) $^+$ a $CD141$ (BDCA-3) $^+$. Z lymfoidní linie pocházejí plazmacytoidní DC, u kterých exprese $CD11c$ zcela chybí, nebo ho produkují ve velmi omezeném množství a jsou charakterizovány expresí antigenů $CD303$ (BDCA-2) a $CD304$ (BDCA-4) a $CD123$. (Dzionek et al., 2000)

Lze je dělit dle lokalizace v těle na epiteliální DC, dermální - intersticiální, DC marginální zóny slinivky, jaterní, T-zonální, thymové, cirkulující krevní aj. Jejich rozmístění odpovídá i morfologické a funkční přizpůsobení.

3.1 Myeloidní DC

Myeloidní (mDC) nebo také klasické, konvenční DC (někdy označované jako DC1) mají schopnost detekovat poranění, pohlcovat antigeny, účinně je zpracovat a prezentovat fragmenty

antigenů naivním T-lymfocytům v komplexu s MHC. Aktivují imunitní obranu proti cizorodému materiálu a naopak se podílejí na ustanovení tolerance vůči autoantigenům.

3.2 Langerhansovy buňky

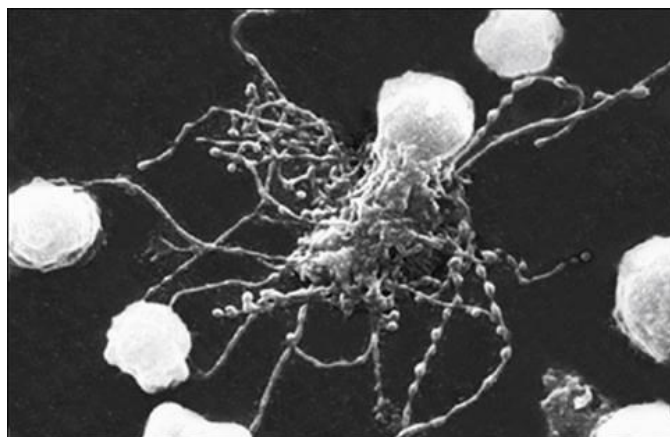
Langerhansovy buňky (LC, z angl. Langerhanse cells) jsou podskupinou DC myeloidního typu a vyskytují se v epidermis. Exprimují molekuly CD1a, specifický typ C-lektinu - Langerin (CD207) a produkují také vysoké hladiny MHCII a epiteliální adhezní molekuly EpCAM (z angl. epithelial cell adhesion molecule).

3.3 Plazmacytoidní DC

Plazmacytoidní buňky (pDC, DC2, IPC z angl. interferon producing cells) jsou přizpůsobené k detekci virových nukleových kyselin receptory TLR7 (z angl. toll-like receptor) a TLR9 (Kadowaki et al., 2001), k této funkci jsou v buňce přítomné i neméně důležité TLR-3. Aktivací TLR dochází k informaci organismu o přítomnosti viru a následné produkci IFN- α (interferon- α) jak samotnými pDC, tak lymfocyty, monocyty a makrofágy. Po detekci virové částice maturují a poté mohou aktivovat naivní T-lymfocyty (Siegal et al., 1999), NK (z angl. natural killer) a NK-T (natural killer T-cell) buňky. Exprimují receptor pro IL-3 (CD123) a jejich přežití a následná maturace jsou na tomto cytokinu závislé (Dzionek et al., 2000).

3.4 Folikulární DC

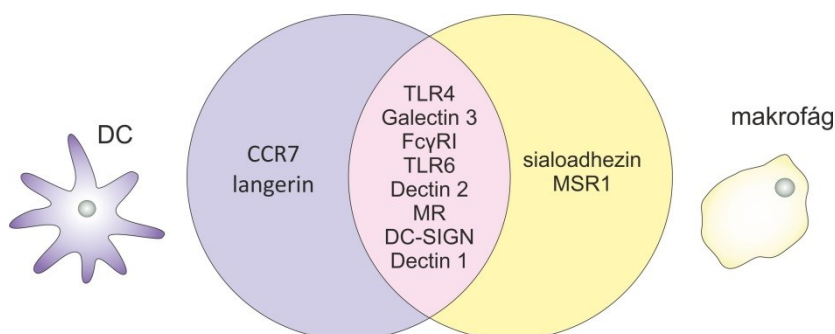
Folikulární dendritické buňky (fDC) sdílí s předchozími typy DC morfologii, avšak funkce a původ jsou odlišné. Na rozdíl od hematopoetických DC pochází ze stromálních mezenchymatických prekursorů a postrádají schopnost zpracovávat antigeny a vystavovat je v komplexu s MHCII. Jejich schopnost spočívá v předkládání antigenů ve formě imunokomplexů B-lymfocytům. Vytvářejí nemigrující populace, které osidlují oblasti s B buňkami ve folikulech uzlin, kde se s B-lymfocyty setkávají. FDC mají receptory pro komplement a Fc receptory, na které se váží antigeny v komplexu s protilátkami. Tyto imunokomplexy se na povrchu fDC hromadí a tvoří útvary řetízkovitého charakteru (ang. *iccosomes*), znázorněno na **Obrázku 2**. Svoji úlohu mají fDC také v prevenci autoimunitních onemocnění. Sekretují faktor Mfge8 (z angl. milk fat globule-EGF factor 8) vážící se na fosfatidylserin, který je u apoptotických buněk extracelulárně exponovaný. Mfge8 tyto buňky dělá “atraktivnějšími” pro ostatní leukocyty a usnadňuje jejich vyhledání a odstranění (shrnuje v Aguzzi, Kranich, & Krautler, 2014).



Obrázek 2 FDC s navázanými imunokomplexy v kontaktu s B-lymfocyty
(upraveno a převzato z <http://clinicalgate.com/antigen-presenting-cells/#f0020>)

4 Rozpoznání a povrchový fenotyp mDC

Přes různorodá umístění v organismu mají mDC společné znaky. Charakteristický je nepravidelný panožkovitý tvar, který DC umožňuje pronikat mezi vrstvami, epitelem, ale také jim usnadňuje pohlcení antigenů. Typy DC se liší v expresi povrchových molekul, hlavních receptorů a koreceptorů. I když DC nelze přímo charakterizovat výčtem specifických receptorů, typická je pro ně právě kombinace povrchových molekul. K takovým molekulám patří lektin CD205, manózový receptor CD206, Langerin CD207, CD208 - DC-LAMP (z angl. dendritic cell-lysosomal associated membrane protein), a lektinový receptor CD209, výběr receptorů je popsán níže. Díky překryvu množin receptorů (viz **Obrázek 3**) mohou DC sdílet podobné vlastnosti např. s makrofágy, T- a B-lymfocyty nebo jinými leukocyty, od těch je však lze odlišit analýzou transkriptomu. Např. právě přítomnost Flt3 (z angl. fms like tyrosine kinase 3) zajišťuje diferenciační potenciál progenitorových buněk v dendritické buňky a na rozdíl od makrofágů je přítomný receptor c-kit nebo chemkinový receptor CCR7 (shrnutí v Merad et al., 2013).



Obrázek 3 Společné a odlišující znaky DC a makrofágů.

Příklad receptorů produkovaných pouze na DC (fialově), pouze na makrofázích (žlutě) a sdílené receptory (růžově),
(MSR1 – z angl. macrophage scavenger receptor 1)

Kromě MHC proteinů exprimují receptory PRRs (z angl. pattern-recognising receptor) – receptory rozeznávající mikrobiální a apoptotické komponenty a struktury označované jako PAMPs (z angl. pathogen associated molecular patterns) a receptory senzitivní na produkty nebezpečí, tzv. DAMPs (z angl. damage associated molecular patterns), jako jsou ATP, DNA a mitochondriální proteiny. Mezi PRRs patří TLR, C lektinové receptory (CLRs) nebo NLR (z angl. nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors).

Neklasické MHCI - CD1

Kromě již zmiňovaných klasických MHCI a MHCII, APC exprimují i neklasické MHC, molekuly skupiny CD1. CD1a (specifický pro Langerhansovy buňky), CD1b a CD1c lze najít na plasmatické membráně a v endoplasmatickém kompartmentu DC, v závislosti na fázi maturace. CD1a a CD1c vystavují peptidy pocházející z mikrobů, CD1b navíc také molekuly pocházející z vlastního prostředí. Molekulu CD1d produkuje širší spektrum imunologických buněk. CD1d má schopnost aktivovat NKT buňky. Samostatně je zařazen receptor CD1e, jehož produkce byla detekována u DC, ale nesdílí s ostatními molekulami některé vlastnosti - není exprimován na povrchu buněk a v buňce se vyskytuje ve formě meziproduktů, jejichž funkce nebyla zatím zcela objasněna. (Angénieux et al., 2000)

NLRs

NLRs jsou cytoplasmatické receptory odpovídající na stresové stimuly a regulující prozánětlivou odpověď. Dělí se na několik podskupin. **NOD** (z angl. nucleotide-binding oligomerization domain) proteiny zastupují NOD1 a NOD2. NOD1 rozeznávají peptidoglykany v membráně G^- bakterií a NOD2 detekují peptidoglykany přítomné na G^- i G^+ bakteriích. Jejich signalizací se spustí sled kaskád, které vedou k aktivaci NF- κ B a k sekreci prozánětlivých cytokinů. **NLRP** (z angl. NACHT, LRR and PYD domains-containing protein) a **NLR4** (z angl. NLR family CARD domain-containing protein) skupina rozpoznává bakteriální komponenty, pod jejichž stimulem dochází k tvorbě inflamazomu, aktivaci kaspázy 1, k tvorbě a sekreci zánětlivých cytokinů IL-1 a IL-18.

C lektinové receptory

C lektinové receptory detekují sacharidové struktury na povrchu patogenů s vysokou specifitou, poté indukují zvýšenou expresi peptidů tohoto pohlceného patogenu v komplexu s MHCI nebo II. Zároveň jsou zodpovědné za rozeznání glykoproteinů tělu vlastních a hrají roli v nastavení tolerance. Většina C lektinových receptorů váže manosylované antigeny, některé však umí vázat i galaktózu. Vazba ligandu na lektin C-typu, která je závislá na vápníku, probíhá pomocí CRD domény (z angl. carbohydrate recognition domain). Tyto receptory jsou produkovány DC jako membránové nebo rozpustné proteiny. Podle orientace N-konce mohou být

děleny do skupin I a II, kdy skupina I zahrnuje proteiny orientované N-koncem extracelulárně, skupina II intracelulárně. Zde jsou uvedeny příklady těchto receptorů.

DC-SIGN (z angl. dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin) je lektin indukovaný sekrecí IL-4. Uplatňuje se při migraci a interakci DC s endotelem, hraje roli v aktivaci T – buněčné odpovědi např. při primárním kontaktu s T-lymfocyty prostřednictvím molekuly ICAM-3 (z angl. Intercellular Adhesion Molecule) (Relloso et al., 2002) a usnadňuje následnou proliferaci T buněk (Geijtenbeek et al., 2000a). Také je již déle známo, že zprostředkovává vazbu obalového proteinu gp120 HIV-1 a usnadňuje poté vstup samotného retroviru do buňky, infikovaná DC pak šíří infekci na CD4⁺ T-lymfocyty (Geijtenbeek et al., 2000b). Vazbu na DC-SIGN využívají pro vstup do buňky i jiné patogeny, např. některé lidské herpesviry (Rappocciolo et al., 2006).

DC-ASGPR (z angl. DC asialoglycoprotein receptor) je Ca²⁺ dependentní receptor podílející se na endocytóze a se schopností vychytávat oxidované LDL (z angl. low density lipoprotein) částice má funkci tzv. scavengerového receptoru. *In vitro* byl identifikován na povrchu nezralých DC (odvozených přímo z progenitorových buněk i z monocytů) a po stimulaci LPS, CD40 nebo TNF- α ztratil schopnost internalizace ligandu. Endocytickou funkci naznačuje fakt, že byl nalezen v časných endosomech, což nabízí možnost recyklace receptoru po jeho endocytóze v komplexu s ligandem (Valladeau et al., 2001). DC-ASGPR také přispívá k indukci Treg produkujících IL-10 (Li et al., 2012). Při endocytóze se uplatňuje i **DEC205** (CD205), lektin I. typu, produkovaný DC a epiteliálními thymovými buňkami (Jiang et al., 1995).

Dectin-1 s intracelulárním ITAM (z angl. immunoreceptor tyrosine-based activation motif) motivem, patří do skupiny II C-lektinových receptorů. Váže β -1,3 glukany a β -1,6 glukany hub a jiných patogenů. Byl objeven na DC, později se ale ukázalo, že je exprimován na mnoha leukocytech (Taylor et al., 2002). Jeho produkce je ovlivňována interleukiny, které se nacházejí v blízkém prostředí, např. IL-4 a IL-13 podporují zvýšení exprese, a naopak IL-10 a LPS expresi potlačují (Willment et al., 2003).

Již zmíněnou molekulou je **Langerin**, lektin specificky produkovaný v epiteliálních LCs. Je hromaděn v cytoplasmatických Birbeckových granulích těchto buněk. Neméně významné jsou i lektiny **DCIR** (DC immunoreceptor) a **MR**.

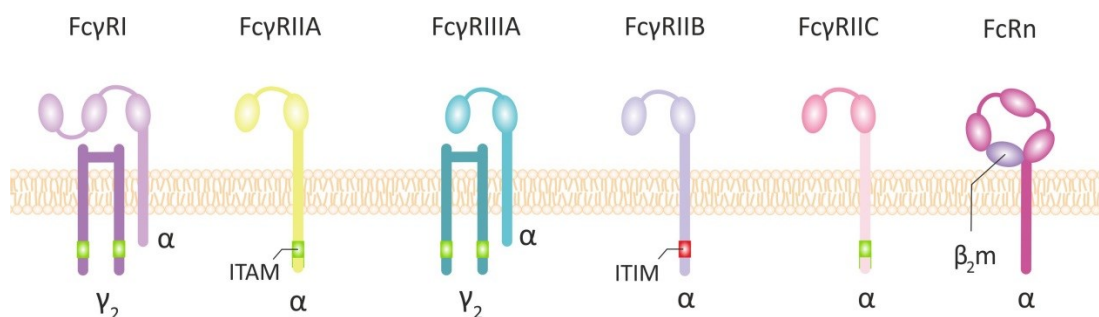
Fc receptory

Fc receptory (FcR) váží Fc části imunoglobulinových molekul. Tyto receptory mají různou specifitu pro odlišné typy imunoglobulinů a nejčastěji se podílejí na pohlcení opsonizované částice. DC produkují řadu těchto receptorů v závislosti na buněčné subpopulaci.

Receptory vázající imunoglobuliny typu G, **Fc γ R**, můžeme dělit dle následující reakce na aktivační a inhibiční typ. Aktivační obsahuje v intracelulární části receptoru ITAM motif, přes jehož signalizaci se spustí aktivační kaskáda kináz typu SRC (název odvozeno z angl. sarcoma)

a SYK (z angl. spleen tyrosine kinase). Naproti tomu receptory s inhibičním motivem ITIM (z angl. immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif), jsou asociovány s fosfatázou SHIP1 a tak působí proti aktivačním signálům. V lidských DC byla nalezena mRNA (z angl. messenger RNA) jak pro aktivační receptory FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIC, FcγRIIIA, tak i inhibiční receptor FcγRIIB. (Guilliams, Bruhns, Saeys, Hammad, & Lambrecht, 2014)

Dalším typem FcR je neonatální **FcRn**, který slouží k ochraně a transportu IgG přes epitel. U dětí se IgG z mateřského mléka váže v prostředí o nižším pH v tenkém střevě a přenáší se přes epitel do krevního řečiště. Jeho vazba k protilátce je závislá na pH, a stejným způsobem je transportována i u DC, kde po pohlcení receptor prodlužuje životnost protilátky a tento proces může ovlivnit prezentaci antigenů (shrnuto v Zhu et al., 2001). Srovnání struktury receptorů pro IgG je schématicky znázorněno na **Obrázku 4**.



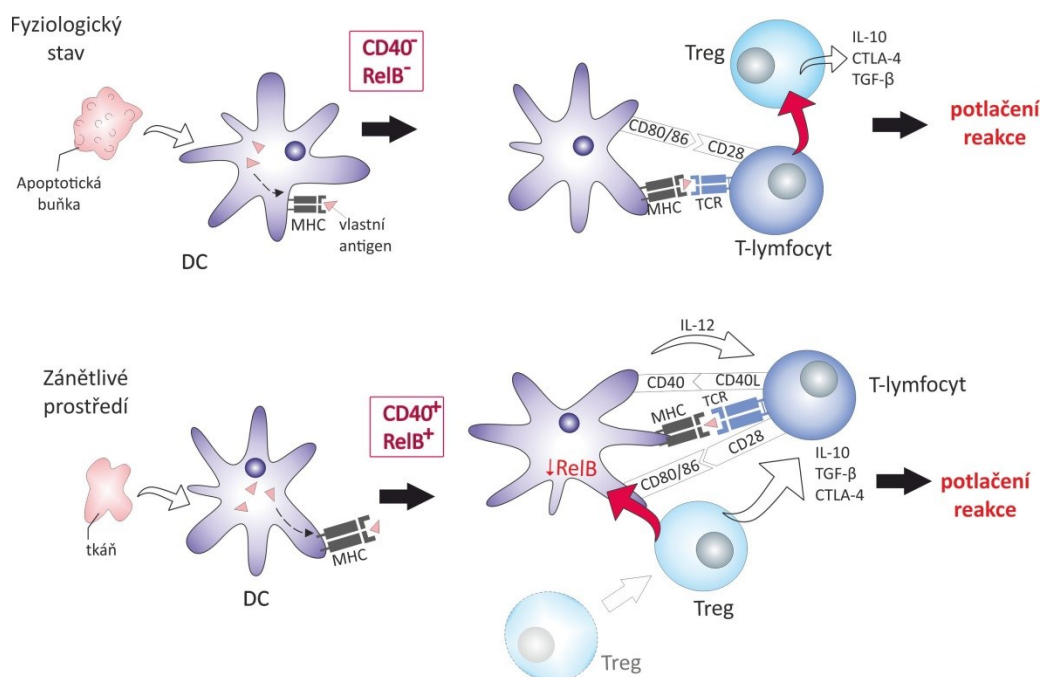
Obrázek 4 Porovnání struktury IgG receptorů nalezených u mDC
β₂m- β₂ mikroglobulin, α – α řetězec, γ- γ řetězec, (upraveno dle Guilliams et al., 2014)

FcεRI je vysokoafinní receptor pro IgE. Po navázání IgE v komplexu s antigenem dojde k endocytóze, zpracování a vystavení. Zvyšuje až 1000x efektivitu prezentace antigenu. Exprese tohoto receptoru není závislá na maturačním stimulu - byl nalezen na prekurzorech, nezralých i zralých DC a neovlivňuje schopnost migrace. Nápadnou korelaci vykazuje hladina IgE s množstvím těchto receptorů, kdy u alergických pacientů s vysokým obsahem krevního IgE byl nalezen i zvýšený počet FcεRI a IgE tak reguluje jeho expresi *in vivo* (Foster, Metcalfe, & Prussin, 2003). Tento receptor je trimerní, na rozdíl od obdobného receptoru u bazofilů a mastocytů, kde se vyskytuje jako tetramer. Rozdílné je i množství receptorů produkované DC v porovnání s bazofily, kdy prekurzory mDC exprimují asi polovinu množství (Foster et al., 2003).

FcαRI jsou receptory pro slizniční protilátky IgA. Jejich účinek může být aktivační i inhibiční dle míry agregace protilátek – po navázání monomerní protilátky, dojde k deaktivaci buňky, ale při agregaci v komplexech s receptorem dojde k aktivaci, která může vyústit v zánětlivou odpověď (Pilette, Detry, Guisset, Gabriels, & Sibille, 2010).

CD40 a tolerance

Povrchový receptor CD40 je exprimován mnoha buňkami – B- a T-lymfocyty, monocyty, epiteliálními i endoteliálními buňkami a DC. Receptor váže ligand CD40L, který se vyskytuje především na aktivovaných $CD4^+$ a $CD8^+$ T-lymfocytech a B-lymfocytech. Různé buňky mohou odpovídat odlišnými, až protichůdnými způsoby na stimulaci CD40. U DC jeho stimulace vyvolává vyšší expresi MHC receptorů, koreceptorů, CD40L a maturaci, u B-lymfocytů slouží jako signál umožňující přežití buněk, u epitelu působí apoptózu a u jiných buněk sekreci GM-CSF (z angl. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) (Ma & Clark, 2009). CD40L má úlohu i v nastolení tolerance vůči vlastním antigenům. Za fyziologických okolností, DC pohlcují odumřelý nebo apoptotický materiál a zpracované peptidy vystavuje na MHC receptorech. Za absence zánětlivého prostředí není spuštěna kaskáda proteinu RelB (protein skupiny NF- κ B) a buňka exprimuje velmi omezené množství CD40. Pokud dojde k interakci MHC receptoru v komplexu s vlastním antigenem a TCR T-lymfocytu (a k interakci koreceptorů), dojde k vývoji tzv. indukovaného Treg, který produkuje supresivní molekuly (IL-10, TGF- β z angl. transforming growth factor, CTLA-4) a dojde k potlačení reakce. Ve druhém případě, pokud se DC nachází v zánětlivém prostředí a je indukována RelB dráha, exprimují se koreceptory a CD40. Interakce CD40 s CD40L vede k iniciaci tvorby cytokinů IL-12 a IL-6. V lymfatické uzlině je komplex DC a T-lymfocytu kontaktován indukovanou Treg, ta sekretuje IL-10, snižuje expresi RelB a potlačí reakci vůči vlastnímu antigenu (Thompson & Thomas, 2002). Schéma tohoto procesu je zobrazeno na **Obrázku 5**.



Obrázek 5 Interakce DC, aktivovaných T-lymfocytů a Treg ve fyziologickém a zánětlivém prostředí (upraveno dle Thompson & Thomas, 2002)

Jelikož DC mohou exprimovat jak CD40 receptor, tak jeho ligand, odhaduje se, že by tato dvojice molekul mohla plnit i funkci v regulaci a přežití těchto buněk v *lamina propria*, kde vytváří provázanou síť, podobně jako je to např. u příbuzných molekul RANK-RANKL (z angl. receptor activator of nuclear factor κ B a jeho ligand) ze skupiny TNF-TNFR. Dalším ligandem pro CD40 je C4bp (z angl. C4 binding protein), složka komplementového systému, jehož působení není u DC zatím objasněno. (Thompson & Thomas, 2002)

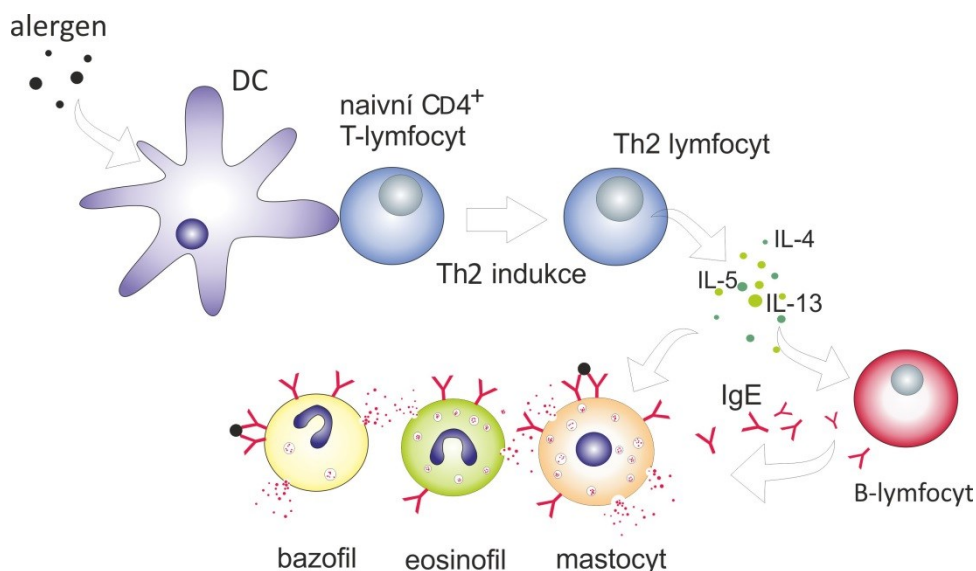
5 Kultivace mDC

Lidské mDC vznikají z $CD34^+$ buněk kostní dřeně a mohou vznikat z monocytů nebo přímo ze svých prekurzorů. Po *in vivo* aplikaci Flt3L (z angl. Fms-like tyrosine kinase 3 ligand) bylo v krvi zaregistrováno značné zvýšení samotných mDC a pDC i jejich prekurzorů (Maraskovsky et al., 2000). Lidské DC buňky apoptoticky umírají do 3 dnů a jejich počet je konstantně doplňován z prekurzorů kostní dřeně. Nejčastější způsob získávání prekurzorů mDC v *in vitro* podmínkách je aplikací IL-4 a GM-CSF na monocyty (Sallusto, 1994). Kombinace GM-CSF a TNF- α (Caux, Massacrier, Jacquet, Schmitt, & Banchereau, 1996), podobně jako přítomnost TGF- β (Strobl et al., 1997), by vedla ke vzniku prekurzorů se znaky LC a monocytů. DC odvozené z monocytů (infDC) jsou důležité při zánětu, kdy monocyty putují do postiženého místa, diferencují se v DC a podporují funkci již přítomných DC (León, López-Bravo, & Ardavin, 2007).

6 Alergie

Alergie označuje skupinu patologických reakcí imunitního systému, které ve výsledné fázi narušují tkáňovou homeostázu zánětlivými změnami. Tyto změny spouští neškodný antigen vnějšího prostředí - alergen, který je rozeznán buňkami přirozené imunity jako tělu nebezpečný. V první fázi alergie dochází k senzibilizaci. Po pohlcení alergenu APC prezentují tento antigen na MHCII na povrchu APC. Setkání naivního $CD4^+$ lymfocytu s APC prezentující alergen vede k preferenční indukci Th2 imunitní odpovědi. Mikroprostředí je tvořeno molekulami GM-CSF, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-25, IL-33 a molekulami uvolněnými v odpovědi na tkáňové poškození – eotaxiny, IL-11 (Tsicopoulos & Joseph, 2000). Hlavním cytokinem imunitní odpovědi Th2 je IL-4, jež interaguje s receptorem IL-4R. Po jejich interakci se fosforyluje a translokuje STAT6 (z angl. signal transducer and activator of transcription 6) do jádra a zvýší transkripci faktoru GATA-3, jež stabilizuje Th2 odpověď. IL-4 je také zodpovědný za izotypový přesmyk na IgE. IL-5 aktivuje eozinofily, podněcuje jejich diferenciaci a proliferaci a IL-13 způsobuje např. hypersekreci hlenu (Ruiter & Shreffler, 2012).

Tato polarizace působí přeměnu B-lymfocytů na efektorové plasmocyty, následnou produkci IgE a jejich navázání na vysokoafinní receptory FcεRI žírných buněk a bazofilů. Další fáze nastává při opětovném kontaktu s alergenem, kdy dojde k přemostění FcεRI s imunoglobuliny antigenem a degranulaci mediátorů, které jsou zodpovědné za výsledné patologické projevy. Stručné schéma alergické reakce je znázorněno na **Obrázku 6**.



Obrázek 6 Schéma alergické reakce

Tento typ reakce je označován jako alergie I. typu neboli časné přecitlivělosti, tedy patologie spojené s tvorbou specifických IgE. Mezi časté alergeny patří pyly, roztoči, zvířecí srst, spory plísní, potraviny nebo některé jedy a léky. Jak bylo již zmíněno, hlavními efektorovými buňkami jsou žírné buňky a bazofily.

Žírné buňky, nebo také mastocyty, jsou granulocyty, které se uplatňují především při parazitární obraně, reparaci tkání, nebo angiogenezi a významnou úlohu mají také v komunikaci s nervovými tkáněmi. V lidském organismu je lze najít na sliznicích a v pojivových tkáních v blízkosti krevních cév, nervů, hladkých svalů aj. Jejich hlavní mediátory můžeme dělit do dvou skupin - mediátory časné a pozdní odpovědi.

Mediátory časné fáze jsou preformované molekuly uložené v cytoplasmatických granulích, které při stimulu splynou s membránou a vylijí svůj obsah. Histamin je hlavní aminový mediátor časné odpovědi a vzniká dekarboxylací histidinu. V granulích jsou obsaženy další aktivní molekuly, jako jsou serotonin, heparin, různé proteázy - chymázy, tryptázy a karboxypeptidáza (Tesikova, 2010) nebo β-hexoaminidáza, která je použitelná i při měření aktivity degranulace mastocytů (Lundequist & Pejler, 2011). Výsledkem jejich kontaktu s tkáněmi je vasodilatace a zvýšená permeabilita kapilár, konstrikce hladkých svalů a bronchů. Podobné účinky mají lipidové mediátory, které vznikají metabolismem kyseliny arachidonové. Prostaglandiny (D2 a E2) zvyšují propustnost kapilár, dráždí nervová zakončení a vyvolávají tak

bolest. Dalším příkladem jsou leukotrieny (B4 a C4), které podporují expresi integrinů a mucinů na endotelu a následnou migraci buněk z krevního řečiště do tkáně, kde probíhá zánět.

Druhou skupinu molekul, **mediátory pozdní části**, mastocyt syntetizuje *de novo*. Tyto molekuly produkuje až poté, co je aktivován. V případě alergie, kdy se uplatňuje Th2 odpověď, produkuje chemotaktické látky a cytokiny IL-4, IL-5 a IL-6, které ovlivňují další imunitní buňky. (shrnutí v da Silva, Jamur, & Oliver, 2014)

Bazofilní granulocyty, na rozdíl od mastocytů, které se diferencují až v cílových tkáních, vyzárají už v kostní dřeni a poté cirkulují v krevním řečišti. Dalším rozdílem je životnost, kdy mastocyty žijí relativně dlouhou dobu a bazofily většinou jen několik dní. V granulích bazofilů se nachází histamin, heparin, granzym B (Tschopp et al., 2006) a vytváří velké množství interleukinů asociovaných s Th2, produkují i prostaglandiny a leukotrieny. Uplatňují se při zánětlivých reakcích imunitní odpovědi a v boji proti helmintům (Voehringer, 2009).

Do místa zánětu jsou přitahovány další buňky, jako jsou eozinofily, neutrofilové aj., které se mohou podílet na chronickém průběhu.

Eozinofily jsou granulocyty dozrávající v kostní dřeni. V jejich granulích je několik hlavních mediátorů: eosinofilní kationický protein, eosinofilní neurotoxin, peroxidáza a hlavní bazický protein (major basic protein). Kromě molekul uskladněných v granulích mohou také po příslušném stimulu produkovat cytokiny IL-4, IL-8, IL-6 a IL-1 β , lipidové mediátory a kyslíkové radikály (Amin, Janson, & Bystrom, 2016). Všechny tyto mediátory mohou vyvolat různé efekty podle toho na jakou tkáň působí. Stimulace nervových zakončení působí svědění a bolest, může být příčinou vypuzovací reakce – kontrakce svalů spojené s kašlem nebo zvracením. Podněcuje i vasodilataci spojenou s přívodem tekutin a otokem. Do postižené části jsou takto transportovány další imunitní buňky a protilátky.

Zvláštním případem alergie s rychlým nástupem a život ohrožujícími projevy je anafylaktický šok. Alergen roznášený krví hromadně aktivuje velké množství mastocytů a bazofilů a hromadné vylití jejich mediátorů může způsobit zvýšenou propustnost cév a snížení tlaku, což vede ke kolapsu organismu (Girotra & Lalkhen, 2014).

Existuje mnoho hypotéz, proč a jak alergie vznikají. Některé studie uvádějí jako důvod nedostatek vitamínu D u populace (Brehm et al., 2009; Sharief, Jariwala, Kumar, Muntner, & Melamed, 2011), jiné, že senzitivizace na alergen probíhá v dětství přes porušenou kožní bariéru (Skene, Ph, Steg, Storey, & Harrington, 2009) aj. Tyto studie a hypotézy ale generují různorodé výsledky a jsou zdrojem skepse k objasnění mechanismů vzniku alergií (Bäck, Blomquist, Hernell, & Stenberg, 2009; Hyppönen et al., 2004). Nejpravděpodobnější se zdá být tzv. hygienická hypotéza, která tvrdí, že s vývojem společnosti, zlepšení zdravotnictví, vyšších hygienických standardů se v dnešní době snižuje antigenní expozice v dětském věku, a u této věkové kategorie dochází k nedostatečnému vyvinutí tolerančních mechanismů a zapojení Th1 lymfocytů v odpovědi (Strachan, 1989).

7 Alergická onemocnění

Alergická onemocnění se mohou a nemusí projevit v místě kontaktu s alergenem, mohou být lokalizovaná nebo systémová. Nejčastěji bývá postižen trávicí trakt, kůže a dýchací cesty, ale mohou se vyskytnout i kombinace projevů. Mezi obvyklé onemocnění patří alergická rýma, potravinové alergie spojené s kožními projevy, průjmy a zvracení, astma, zánět spojivek nebo kůže, svědivost a zvýšená produkce hlenu. Vybraná onemocnění jsou uvedena níže.

7.1 Astma

Astma je chronické onemocnění definované jako ztížené dýchání vyskytující se v epizodách s častými doprovodnými příznaky jako krátkodechost, dušnost a kašel, způsobené dočasnou obstrukcí dýchacích cest. Podkladem pro vznik astmatu v plicích je zánět. Pacienti s astmatem reagují zvýšenou dráždivostí dýchacích cest (AHR, z angl. airway hyperresposivity) na přítomnost některých vdechnutých látek, což má za následek stažení hladkého plicního svalstva.

Imunologické známky zánětu se dají u pacientů s astmatem prokázat několika ukazateli. Prvním z nich je přítomná eozinofilie v dýchacích cestách a ve sputu pacientů, lymfocytóza a mastocytóza. V důsledku proliferace a hyperplázie pohárkových buněk dochází ke zvýšené aktivaci makrofágů a epitelu a produkci hlenu. U pacientů s těžším průběhem se mohou objevit i strukturní změny jako subepiteliální fibróza, která souvisí s poškozením plic (Zhu et al., 1999). Dalším ukazatelem je produkce cytokinů IL-4, IL-5, někdy také IL-13, IL-9, GM-CSF, které indukují změny v dýchacích cestách (shrnuto ve Finkelman, Hogan, Hershey, Rothenberg, & Wills-Karp, 2010). Ve většině případů se také vyskytuje zvýšená hladina IgE. Toto platí u zánětu druhého typu (Th2) se zvýšenou eosinofilií, na rozdíl od zánětu typu 17 (vyvolaný Th17), kdy převažuje zvýšené množství neutrofilů (Laan et al., 1999).

Svoji úlohu zde mají i DC. Mohou být přímo ovlivněny alergenem nebo nepřímou interakcí s řasinkovým epitelem, pohárkovými buňkami, nebo jejich progenitorovými buňkami (angl. Clara cells) Prostředí plic má navíc odlišné složení oproti jiným tkáním – výskyt surfaktantu a mucinů může ovlivňovat funkci DC (Cook & MacDonald, 2016).

7.2 Alergická rýma

Alergická rýma (AR, z angl. allergic rhinitis) sdílí mnohé imunopatologické projevy s alergickým astmatem. Bývá často vyvolaná běžnými látkami z prostředí - pyly, trávami, prachem nebo zvířecí srstí. Vyskytuje se v sezónní variantě (SAR, z angl. seasonal allergic rhinitis) nebo permanentní (PAR, z angl. perenial allergic rhinitis). Mezi příznaky patří svědění a sekrece z nosu, mohou být postižené i vedlejší nosní dutiny nebo oční spojivky.

Alergická rýma má dvě fáze vývoje. Krátce po kontaktu s alergenem se projeví časné symptomy, jako svědivost, kýchání, sekrece z nosní dutiny, nebo vyšší produkce hlenu. Ty jsou způsobené aktivací žírných buněk pomocí IgE, vylitím mediátorů z cytoplasmatických granulí, a produkcí leukotrienů a prostaglandinů. V pozdní fázi dojde pod atraktivním účinkem těchto mediátorů k nahromadění leukocytů, které podporují a rozvíjí tyto symptomy (KleinJan et al., 2000). Mastocyty a eozinofily jsou také pravděpodobně zodpovědné za chronický průběh těchto patologií tím, že jejich produkty zmiňované v kapitole 6, lákají do místa probíhajícího zánětu i Th2 lymfocyty. (shrnutí v Gelfand, 2004)

7.3 Potravinová alergie

Přijmutí alergenu potravou vyvolává imunitní reakci, kterou mohou doprovázet symptomy jako kopřivka, otoky, astma, zvracení, průjemy aj., jejich vývoj trvá od několika hodin po požití do dvou dnů. Tyto symptomy jsou vyvolané vylitím mediátorů.

Hlavním místem expozice je sliznice GIT, která se setkává s antigeny patogenních i symbiotických bakterií a potravinovými antigeny. Zde nastává první eliminace negativních činitelů a navození tolerance. Prvním mechanismem tolerance je základní “vybavení“ GIT, které zahrnuje např. extrémní hodnoty pH v určitých částech, enzymatická výbava, nebo žlučové soli. Pokud je již jednou protein přijatý potravou vyhodnocen intestinálním imunitním systémem jako neškodný, tolerance na periferii je nastavena. Tento jev je známý jako ustavení orální tolerance. DC jsou nezbytné v navození orální tolerance a ustavení homeostáze ve střevech, kde hrají roli v prezentaci potravinových antigenů a v řízení další odpovědi. DC lze najít v Peyerových placích, mesenterických uzlinách, lymfoidních folikulech, ve sliznici a intestinální *lamina propria* (Chirido, Millington, Beacock-Sharp, & Mowat, 2005).

Byla identifikována role DC a enzymu retinaldehyd dehydrogenázy-2 v tenkém střevě. Tento enzym produkovaný DC dokáže v přítomnosti TGF- β přeměňovat vitamin A v retinovou kyselinu, která má schopnost indukovat přeměnu naivních T-lymfocytů v regulační (Sun et al., 2007). Úloha tohoto enzymu byla však zatím popsána pouze u myši, u lidí tento jev nebyl dostatečně prozkoumán.

Mezi abnormální reakce na potravinové antigeny, často spojované s alergiemi, patří i chronický zánět jícnu (EE, z angl. eosinophilic esophagitis), charakteristický infiltrací jícnu eozinofily.

7.4 Atopická dermatitida

Atopická dermatitida (AD) nebo také ekzém je chronické kožní zánětlivé onemocnění se stavy relapsů a klidových období. Ekzém, projevující se svěděním, se obecně nejčastěji nachází na intertriginozních místech, např. ohybových částech těla, hlavě a krku. U pacientů se objevují

léze infiltrované CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocyty, eozinofily a DC, často bývá i zvýšená koncentrace IgE v krvi.

8 Úloha dendritických buněk v alergii

Důležitost DC v rozvoji a udržení hyperreaktivity byla prokázána v několika studiích:

Na myším modelu astma se sensitizací ovalbuminem (OVA) bylo prokázáno, že odstranění DC z alergického jedince vedlo k potlačení hypersensitivity způsobené alergenem a po zpětném podání DC se astmatický fenotyp znovu projevil (van Rijt et al., 2005). U myši byl také prokázán vývoj astmatického fenotypu po aplikaci *in vitro* OVA aktivovaných DC a následné stimulace aerosolem s obsahem OVA (Sung, Rose, & Fu, 2001). Další data ukazují, že po alergenní stimulaci astmatických potkanů OVA a myši HDM v kombinaci s TLR4 došlo k významnému nárůstu počtu DC v dýchacích cestách (Hammad et al., 2009).

U lidí došlo zatím k potvrzení posledního poznatku – navýšení počtu DC v dýchacích cestách v souvislosti s alergickým stimulem. U pacientů zároveň došlo k poklesu cirkulující formy DC, což naznačuje, že buňky jsou rekrutovány do dýchacích cest po alergickém podnětu (Jahnsen et al., 2001).

FcεRI a MR

IgE receptory usnadňují DC prezentaci alergenů a zesílení odpovědi lymfocytů při nízkých koncentracích alergenu. CD4⁺ T-lymfocyty kokultivované s DC, získaných od alergických dětí s EE nebo alergií na mléko, tvořily zvýšené množství Th2 cytokinů IL-5 a IL-13. Byla popsána pozitivní korelace s Th2 cytokiny a FcεRI. Pokud byly CD4⁺ lymfocyty kultivovány bez přítomnosti DC, hladiny těchto cytokinů se nezvýšily. DC dětí s potravinovou alergií produkovaly vysoké hladiny GM-CSF, který je důležitým růstovým faktorem pro eozinofily a může přispívat ke zhoršení průběhu alergického onemocnění. (Frischmeyer-Guerrerio, 2010)

Velký příjem alergenů (např. antigen z HDM – Der p1, arašídový, alergeny ze psí srsti) byl u DC zaznamenán přes **MR**, jehož množství je zvýšeno u pacientů s alergií (Deslée et al., 2002). Antigeny z HDM – Der p1, psí, a arašídů (Salazar, Sewell, Shakib, & Ghaemmaghami, 2013). Signalizace přes MR vedla k indukci sekrece IL-4. Byla zaznamenána aktivace alergenem Der p 2 přes MR a TLR4, která vyústila v diferenciaci Th2 buněk, což navrhuje možnou spolupráci receptorů při vzniku alergické odpovědi (Royer et al., 2010), navíc LPS indukovalo dráhu enzymu IDO (z angl. indolamine 2,3-dioxygenase) (Salazar et al., 2016), jehož účinky jsou uvedeny níže. Odstranění MR z DC pomocí siRNA (z angl. small interfering RNA) *in vitro* vedlo k poklesu příjmu alergenů z prostředí a částečné aktivaci Th1 buněk (Royer et al., 2010).

IDO

IDO je enzym, který reguluje metabolismus aminokyseliny tryptofanu (Trp). Tato dráha byla původně považována za důležitou v boji proti patogenům (Mellor & Munn, 1999), později se však ukázalo, že se uplatňuje i v modulaci T- buněčné odpovědi u DC. Trp je esenciální při syntéze proteinů a odpovědi DC včetně aktivace naivních $CD4^+$ T-lymfocytů (Mellor & Munn, 1999). Po zahájení IDO dráhy se odebírá výchozí látka tryptofan a jeho katabolismem vzniká produkt kynurenin.

Bylo nalezeno několik spouštěcích mechanismů transkripce enzymu IDO, těmi hlavními jsou $IFN-\gamma$, prozánětlivý mediátor, a CTLA-4 za interakce koreceptorů CD80 nebo CD86, přítomných na DC (Grohmann et al., 2002). Signalizační dráha závislá na $IFN-\gamma$ se pravděpodobně uplatňuje jako protekční a předchází nadbytečnému poškození okolních tkání při probíhajícím zánětu.

T-lymfocyty jsou specificky senzitivní na přítomnost Trp a po snížení jeho koncentrace bylo prokázáno, že buněčný cyklus T-lymfocytů se zastavil v kontrolním bodě buněčného cyklu a po přidavku Trp a potřebné signalizace se cyklus opět zahájil (Munn et al., 1999). DC po zánětlivém stimulu zahajují IDO dráhu a spotřebovávají velké množství Trp, čímž brání proliferaci T-lymfocytů a jimi zprostředkovanou Th2 zánětlivou reakci (Terness et al., 2002).

Dalším mechanismem je toxicita produktů IDO. Myší T-lymfocyty měly sklony k apoptóze indukovanou Trp metabolity (Fallarino et al., 2002) a stejně tak i lidské T-lymfocyty byly citlivé na přidavek kynureninu a pikolinové kyseliny, které vznikají jako vedlejší produkt metabolismu Trp (Frumento et al., 2002).

Puriny

Ukázalo se, že některé endogenní DAMPs jako ATP, jsou důležitými mediátory při alergickém zánětu a zodpovídají za zhoršený průběh bronchiální hyperresponsibility. Buňky generují ATP v rámci energetického metabolismu za přítomnosti kyslíku a je využíváno a štěpeno na ADP nebo AMP. Pokud dochází k nadbytečné stimulaci nebo stresu bronchiálních buněk hypoxií, vzniká přebytek AMP, které nemůže být zpětně přeměněno a je transportováno z buňky ven. Tam může být převedeno na adenosin pomocí enzymu 5'nukleotidázy a v obou formách působí jako aktivační stimuly adenosinových receptorů. Adenosin v roli nepřímého stimulu zodpovídá za aktivaci mastocytů, vylití histaminu a dalších mediátorů, které působí bronchokonstrikci a atrakci eozinofilů (shrnuto v van den Berge, Polosa, Kerstjens, & Postma, 2004). ATP se váže na receptor $P2X_7R$, jeden z typů purinergních receptorů, který lze charakterizovat jako iontový kanál řízený ligandem. K jeho aktivaci dochází po delší expozici ATP v místech s jeho zvýšenou koncentrací. Takové prostředí se vyskytuje v dýchacích cestách s probíhajícím zánětem.

Po inhalaci AMP astmatickými pacienty bylo prokázáno, že v krátkém časovém intervalu došlo k zánětlivé odpovědi a ve studiích, kde byl receptor blokován nebo úplně chyběl, bylo potvrzeno, že pacienti projevovali mírnější příznaky (Labasi et al., 2002). Výsledek ukazuje na to, že alergické astma je spojeno s vyšší produkcí P2X₇R, a proto, že exprese tohoto receptoru byla prokázána na lidských DC (Berchtold et al., 1999), zvyšuje kapacitu DC indukovat Th2 odpověď. Signalizace tohoto receptoru má proastmatický efekt *in vivo* (Müller et al., 2011).

ICOS-ICOSL

ICOS kostimulační receptor (z angl. inducible T-cell costimulatory) je protein ze skupiny inhibičních receptorů CTLA-4. Indukce jeho exprese je zahájena aktivací T-lymfocytů exprimovaných na T-lymfocytech. Jeho ligand ICOSL byl nalezen na DC a v komplexu s receptorem je důležitý pro supresi alergické odpovědi experimentálního astma. U pacientů s alergickou rýmou byla nalezena výrazně snížená exprese proteinu ICOSL, což zajišťovalo kapacitu T-lymfocytů produkovat IL-13 a IL-5. (shrnutí v Shen, Hupin, Froidure, Detry, & Pilette, 2014)

IL-18

Kromě zvýšených hodnot klasických Th2 cytokinů byla v posledních letech zaznamenána i souvislost mezi koncentrací IL-18 a alergickými onemocněními. IL-18, také známý jako protein, který indukuje produkci IFN- γ Th1 buňkami, byl identifikován jako jeden z faktorů zhoršující průběh patologií spojených s alergiemi. Kromě epiteliálních buněk a keratinocytů je produkován i DC (Cameron et al., 1999). IL-18 je sekretován v neaktivní formě a pro jeho aktivaci je vyžadována přítomnost enzymu ICE (z angl. IL-1 β converting enzyme) nebo kaspázy-1, která je indukovaná inflamazomem.

IL-18 působí přímo na buňky hrající důležitou roli při alergické odpovědi, jako jsou bazofily a mastocyty, u kterých byl prokázán výskyt receptoru pro tento cytokin (Sanders & Mishra, 2016). Po stimulaci mastocytů se rapidně zvýšila produkce chemokinů a stejně tak bazofily zvýšily produkci leukotrienů B₄ a C₄ (Sanders & Mishra, 2016). Jedním z efektů, které byly prokázány, je prodloužení přežívání neutrofilů v postižené tkáni (Hirata et al., 2008), které se zde mohou hromadit společně s eozinofily. Zvýšené hladiny IL-18 byly nalezeny u pacientů s chronickou nebo akutní alergickou kopřivkou (Kurt et al., 2011) i u pacientů s oběma formami alergické rýmy, SAR i PAR, (Verhaeghe et al., 2002).

TIM

Úloha TIM (z angl. T-cell immunoglobulin and mucin domain – containing protein) byla ověřena na myším modelu potravinové alergie a na lidském modelu AHR. TIM4 je exprimován DC v tenkém střevě a jeho ligand TIM1 T-lymfocyty u myši. Bylo zjištěno, že oba tyto proteiny

účinkují v regulaci Th2 odpovědi. Po podání potravinového alergenu se zvýšila sekrece obou těchto proteinů (Yang et al., 2007). U lidských pacientů s alergií na HDM, léčených SIT (z angl. allergen – specific immunotherapy) terapií alergenem Der p 1, se snížila exprese TIM4 i TIM1 a snížila se i vážnost projevů (Zhao et al., 2010).

CCL1 a CCR8

Chemokin CCL1 a jeho receptor CCR8 by mohly hrát roli v iniciaci a rozvoji AD. Produkce chemokinu CCL1 byla zaznamenána u mastocytů, DC a dermálního endotelu a jeho receptoru CCR8 ve větším množství na T-lymfocytech, v menším na intersticiálních DC a LC *in vitro*. U buněk stimulovaných alergenem, došlo k nadprodukci molekuly CCL1 a stejně tak bylo zaznamenáno, že CCL1 je nadprodukován v kůži pacientů s AD. Také se zdá, že CCL1 spolupracuje s jiným chemokinem CXCL12, jehož účinkem je atrakce T-lymfocytů a LCs (Gombert et al., 2005).

8.1 Interakce DC a epitelových buněk

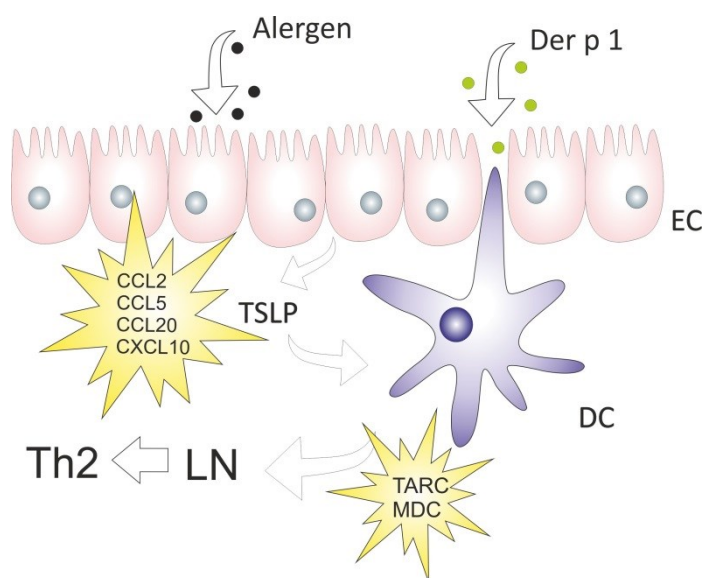
Díky blízkému fyzickému kontaktu epitelu a DC je umožněno jejich vzájemné působení a následkem může být ovlivněno relativně široké spektrum imunitních buněk. K interakci dochází přes cytokinové prostředí nebo přímo prostřednictvím receptorů. Mezi takové molekuly patří TSLP (z angl. thymic stromal lymphopoietin), OX40L, GM-CSF, CCL20 aj.

Der p 1

Jedna ze studií se zabývala schopností epitelu bronchů (BECs, z angl. bronchial epithelial cells) stimulovaných alergeny tvořit chemokiny atrahující DC a porovnávala jejich množství u pacientů s alergií a u zdravých lidí. Jako antigen byl použit Der p 1, častý alergen tzv. bytového prachu způsobeným roztoči (HDM, z angl. house dust mite), izolovaný z *Dermatophagoides pteronyssinus*, který má cystein - proteázovou aktivitu a umí aktivovat sekreci BEC přes štěpení receptoru PAR-2 (z angl. protease-activated receptor- 2). Jeho proteázová aktivita je také schopna rozštěpit těsné spoje mezi buňkami epitelu a dostat se tak do přímého kontaktu s DC (Wan et al., 1999), u kterých indukuje sekreci cytokinů polarizujících Th2 odpověď (Charbonnier et al., 2003). Stimulace BEC astmatických citlivých jedinců na Der p1 vyvolala zvýšenou produkci chemokinů CCL2, CCL5, CXCL10 a CCL20, které jsou atraktanty pro DC. Jeden z těchto proteinů, CCL20, je ligand receptoru CCR6, který je exprimován na DC a indukuje migraci prekurzorů DC a LC. (Pichavant et al., 2005). U pacientů s astmatem byly po stimulaci nalezeny výrazně zvýšené hodnoty CCL20 (Reibman, Hsu, Chen, Bleck, & Gordon, 2003) a po vyšetření plicního vzorku biopsií byla u astmatiků nalezena i vyšší exprese PAR-2, než u zdravých lidí (Knight et al., 2001).

Thymický stromální lymfopoetin

Jednou z molekul zásadním způsobem ovlivňující chování DC přes epitel je thymický stromální lymfopoetin (TSLP). Je ligandem pro receptor TSLPR, který je komplex složený z vlastního TSLP receptoru a α -řetězce receptoru pro IL-7 (IL-7R α). TSLP je produkován epiteliálními buňkami poté, co dojde ke kontaktu s alergenem. Cytokin působí na DC jako maturační činidlo - zvyšuje u DC expresi maturačních molekul, indukuje jejich migraci do lymfatických uzlin (LN, z angl. lymph node) a produkci atraktantů Th2 lymfocytů – TARC (CCL17) a MDC (CCL22). Lidské epiteliální buňky ovlivňují převážně DC s fenotypem CD11c⁺ (Soumelis et al., 2002). Zvýšené hodnoty TSLP byly nalezeny u pacientů s AD v epiteliálních buňkách a keratinocytech (Ito et al., 2005) a u astmatických pacientů (Ying et al., 2005). Vybrané mechanismy jsou podrobněji popsány níže.

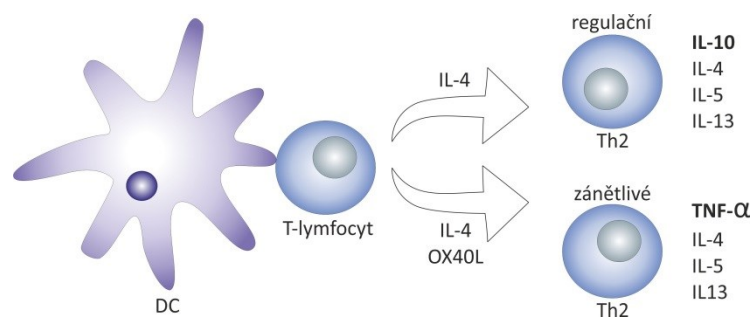


Obrázek 7 Interakce DC s epitelem bronchů

Der p 1 s proteázovou aktivitou se dostává do přímého kontaktu s DC. Stimulace BEC vyvolává produkci atraktantů pro DC (CCL2, CCL5, CXCL10 a CCL20) a sekreci TSLP. TSLP indukuje maturaci DC a jejich migraci do lymfatických uzlin (LN), kde indukují Th2 odpověď a také DC sekreci atraktantů pro T-lymfocyty (TARC a MDC).

OX40L

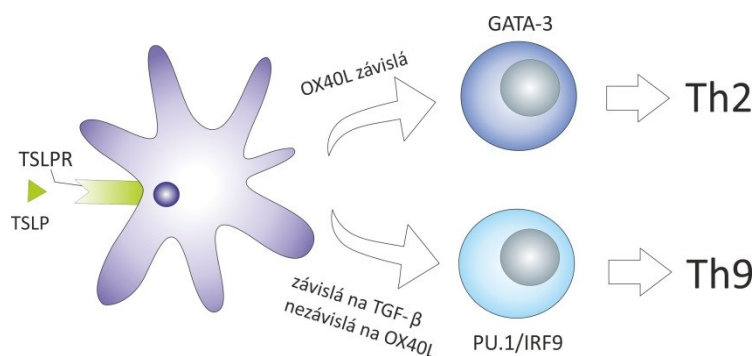
Stimulace DC TSLP podporuje expresi OX40L, který interaguje s receptorem OX40 CD4⁺ T-lymfocytů. Receptor patří do skupiny receptorů TNFR, a je limitním pro zahájení diferenciace lymfocytů. Tyto aktivované DC následně podporují vznik zánětlivé formy Th2 lymfocytů – buněk produkujících proalergické cytokiny jako jsou IL-4, IL-5, IL-13, ale nízké hodnoty IL-10 a navíc tvořících velké množství IFN- γ . Tím se tyto zánětlivé lymfocyty liší od “regulačních” Th2 lymfocytů. Tento efekt ovlivňuje přítomnost IL-12, Th1 polarizačního produktu, reakce vyžaduje jeho nepřítomnost (znázorněno na **Obrázku 8**). (Ito et al., 2005)



Obrázek 8 Schéma Th2 odpovědi klasifikováno dle produkce IL-10 a TNF- α na regulační a zánětlivou
Typické Th2 cytokiny jsou produkovány oběma typy buněk, OX40L přítomný na DC indukuje sekreci TNF- α , ale inhibuje produkci IL-10. Zánětlivé Th2 lymfocyty se uplatňují u alergických onemocnění
(upraveno dle Ito et al., 2005)

Th9 polarizace

Protein TSLP je schopen indukovat DC k produkci nejen Th2 polarizujících cytokinů jako IL-5 a IL-13, ale také cytokin IL-9 asociovaný s Th9 odpovědí. Th9 lymfocyty, charakteristické expresí transkripčního faktoru TF-IRF4/PU.1, jsou spojovány se zánětlivou odezvou imunitních buněk. Pro účinnou diferenciaci je potřebná přítomnost TGF- β v blízkém okolí a tato signalizace je nezávislá na produkci proteinu OX40L (Froidure et al., 2014). IL-9 účinkuje na epitel bronchů a přímo indukuje produkci mucinů (Longphre et al., 1999).



Obrázek 9 Role TSLP v indukcii T-lymfocytů u astma

TSLP může indukovat Th2 odpověď přes cestu závislou na OX40L signalizaci, nebo Th9 odpověď závislou na TGF- β
(upraveno dle Froidure et al., 2014)

IL-25 a IL-1 β

IL-25 byl teprve nedávno zařazen do cytokinů asociovaných s Th2. Jeho účinky v souvislosti astmatem jsou již déle známy u myši (Fort et al., 2001), podobně jako např. efekt IL-33 (Eiwegger & Akdis, 2011), u lidí zatím nejsou natolik prozkoumány. **IL-25** je protein řazený do skupiny cytokinů IL-17 a zesiluje odpověď paměťových Th lymfocytů. Ve zvýšeném množství je produkován bronchiálními epitelálními buňkami a epitelem dýchacích cest po stimulaci alergenem (Corrigan et al., 2011). Exprese jeho receptoru je zvýšena u Th2 paměťových lymfocytů poté, co jsou aktivovány jedním z těchto stimulů: alergenem, IL-7 a DC aktivovanými

proteinem TSLP. Všechny tyto stimuly vedly k expresi transkripčního faktoru GATA-3 nezávisle na IL-4 (Wang et al., 2007). Stimulovaly tím Th2 proliferaci a posílily alergickou odezvu.

IL-1 β se podílí na interakci epitelu dýchacích cest a DC. Jeho produkce indukovaná stimulací epitelu alergenem Der p 1 vyvolává sekreci TSLP a chemoatraktantů pro DC buňkami epitelu (Rusznak et al., 2001; Lee & Ziegler, 2007).

9 Rozdíl mezi imunitním systémem dětí a dospělých

Již prenatálně lze u lidí identifikovat buňky podobné DC exprimující MHC II v játrech a thymu plodu. Ve 12. týdnu gestace jsou identifikovatelné i v uzlinách a ve 23. týdnu v kůži a tonsilách. Vlastnosti novorozeneckých DC lze zkoumat na buňkách izolovaných z pupečnickové krve. (Willems, Vollstedt, & Suter, 2009)

V porovnání se známými parametry u dospělých, počet mDC bývá u novorozenců násobně menší. Ve skutečnosti se ukázalo, že poměr pDC ku mDC je 3:1, kdežto u dospělých jedinců je tento poměr opačný a převažuje populace myeloidních buněk (Willems et al., 2009). Izolované DC byly pozorovány z hlediska povrchových znaků a podle předpokladu se ukázalo, že u novorozenců je v porovnání s dospělými jedinci mnohem více buněk v nezralém stádiu a DC exprimovaly méně MHCII, ICAM (z angl. intercellular adhesion molecule) a kostimulačních molekul CD80 a CD86 (Willems et al., 2009). Buňky izolované z pupečnickové krve jen slabě exprimují charakteristické povrchové znaky, a proto se tyto buňky nazývají IdDC - méně diferencované populace DC (z angl. less differentiated DC). Lze je charakterizovat povrchovou přítomností znaku CD123 a absencí CD11c a počet těchto buněk klesá hlavně v prvních 5 letech života (Hagendorens et al., 2003).

Nalezla se i funkční rozdílnost těchto neonatálních buněk po různorodých stimulech, např. po aktivaci LPS proběhla pouze částečná maturace buněk. Překvapující bylo sledování produkce cytokinů při TLR4 stimulaci, kdy neonatální mDC byly schopné produkovat stejné množství prozánětlivých cytokinů jako u dospělého jedince (Willems et al., 2009).

Další rozdílností byla schopnost neonatálních DC aktivovat Th1 odpověď, kdy DC byly schopny aktivovat T-lymfocyty jen částečně. Produkovaly mnohem nižší množství Th1 cytokinu IL-12 a jeden z výzkumných týmů ukázal, že dětské DC produkují snížené množství tohoto cytokinu přibližně do 12 let věku, kdy jeho hladina teprve dosáhne dospělých hodnot (Upham et al., 2002). S tímto zjištěním koreluje i skutečnost, že nezralý imunitní systém je citlivější na virové infekce, nákazu *Mycobacterium tuberculosis* nebo *Salmonella spp* (Simon, Hollander, & McMichael, 2015). Postnatální zrání populací DC je relativně pomalé a souvisí s mírou rozvoje imunokompetence. Zralost DC je limitním krokem pro vývoj Th1 odpovědi u mladého organismu a z hlediska dominance Th1 vs Th2 cytokinů je novorozenecké a dětské stádium rizikovější pro vývoj alergické odezvy (Holt, 2004).

Pro úplnost a srovnání zde uvádím i rozdíly v pozdějších letech života. Většina studií uvádí, že počet DC v mladém a starším věku se výrazně nemění, v pozdním stáří však těchto buněk ubývá. U senilních jedinců byla lehce pozměněna morfologie - snížený povrch DC a DC exprimovaly zvýšené množství některých molekul např. DC-LAMP a CD83. U starších a mladších jedinců byla zaznamenána přibližně stejně účinná exprese kostimulačních molekul, nenašly se ani změny v produkci TLR a v aktivaci T-lymfocytů. (shrnutí v Agrawal & Gupta, 2011; Agrawal, Agrawal, & Gupta, 2007)

10 Alergici versus zdraví z pohledu proporčního zastoupení a funkčních vlastností DC

IL-10 se v imunitních dějích uplatňuje jako regulační a toleranční cytokin. Bylo zjištěno, že DC alergiků by mohly být funkčně pozměněné z hlediska sekrece IL-10, která dále ovlivňuje regulaci T-lymfocytů. U pacientů s alergickou rýmou byla nalezena podstatně nižší koncentrace IL-10 v krvi a ze vzorků nosní sliznice. V krvi se také nalézalo redukováné množství IL-12, který polarizuje Th1 odpověď, což jasně naznačuje směřování k Th2 indukci. Snížená exprese IL-10 se tak podílí na částečném selhání systému regulovat odpověď na alergen. (Pilette et al., 2013)

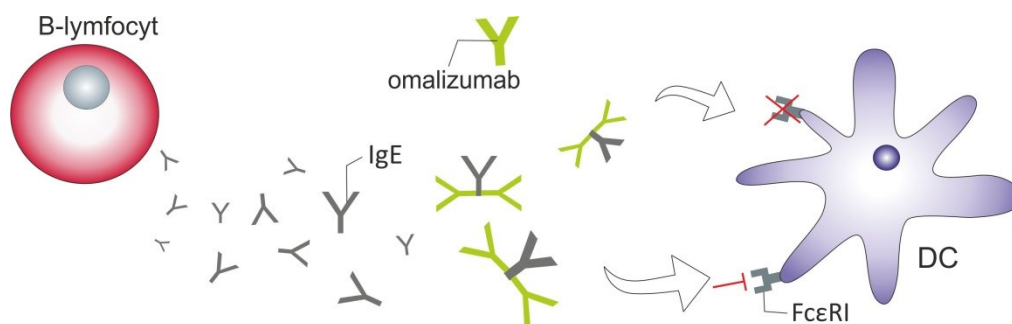
DC odvozené od monocytů měly u atopických dětí mnohonásobně větší schopnost indukovat aktivaci a proliferaci T-lymfocytů. Buňky atopických subjektů také exprimovaly zvýšené hladiny MHC, CD11b a adhezni molekuly CD58. Překvapivě naopak snížená množství FcεRI byla nalezena u atopických jedinců, dále také snížené množství receptorů pro IgG, a IgA. Také se zdá, že u atopiků jsou prekursori DC potenciálně lepšími APC než u zdravých jedinců. Spekuluje se, že odlišné chování by mohlo být také způsobeno rozdílnou schopností reagovat na IL-4 nebo GM-CSF (Heuvel, Vanhee, Postmus, Hoefsmit, & Beelen, 1998). Ve vzorku z pupečnickové krve, tedy u novorozenců, byl nalezen vyšší počet IdDC u jedinců s atopickou dermatitidou než u zdravých dětí (Hagendorens et al., 2003).

11 Terapeutické využití DC při léčbě alergií

DC jsou důležité převážně v iniciaci alergické odpovědi, čehož se snaží využít některé přístupy v léčbě. Byla také vyzkoušena eliminace DC z dýchacích cest u myší, přičemž lokální odstranění DC vedlo ke zhoršení stavu subjektů s respirační virovou infekcí a vedla k systematickému onemocnění (GeurtsvanKessel et al., 2008).

Jako efektivní se ukázalo být cílení na protilátky a jejich receptory. U lidí s alergií na pyl, projevující se alergickou rýmou a astmatem, byla vyzkoušena imunoterapie alergenem, kdy došlo k vyšší produkci antigen specifických **IgA** protilátek. Tyto IgA byly schopné indukovat produkci IL-10 monocytů a DC odvozených z monocytů (Charles Pilette et al., 2010). Další efektivní látkou je **omalizumab**, monoklonální protilátka navržená proti Fc fragmentu IgE protilátek (viz **Obrázek 10**). U lidí s potravinovou alergií se zvýšeným množstvím IL-13 a IL-5 byla použita *in*

vivo léčba cílená na DC, kdy po podání omalizumabu došlo k neutralizaci IgE a redukcí receptorů FcεRI na DC pacientů (Schroeder et al., 2010). Na lidské DC odvozené z monocytů byla *in vitro* aplikována **IVIG terapie** (z angl. intravenous immunoglobulin therapy). Léčba pravděpodobně funguje na základně kompetice intravenózně aplikovaného IgG s IgE o Fc receptory. IVIG byla účinná v potlačení produkce kostimulačních molekul, maturace a diferenciace DC a indukovala sekreci tolerančního IL-10, ale snižovala sekreci IL-12. Těto metody je možné využít u zánětlivých onemocnění, největší úspěch byl však prokázán u autoimunitních chorob. (Bayry et al., 2003)



Obrázek 10 Účinky omalizumabu

Protilátka omalizumab se váže na Fc část IgE, čímž brání navázání IgE na FcεRI a snižuje expresi tohoto receptoru

Další mechanismy zahrnují tvorbu protilátek proti TSLP. Imunoglobulin **AMG 157** byl navržen proti části TSLP proteinu. Jeho vazba zamezuje interakci TSLP a jeho receptoru a ve výsledku dochází k tlumení symptomů u lidí s astmatem (Gauvreau et al., 2014).

Jednou z nejvyužívanějších léčebných látek jsou kortikosteroidy. Lokální nebo systémové užívání **steroidů** brání migraci DC z periferie do plic při akutním zánětu, inhibuje maturaci LC a snižuje jejich množství v plicích (Berman, France, Martinelli, & Hass, 1983).

Účinky na DC mají také imunosupresivní agens, která bývají využívána i při transplantacích. Patří mezi ně např. **cyklosporin** a **tacrolimus**, které mohou vyvolat apoptózu DC a snížit hladiny jimi produkovaného TNF-α. **Rapamycin** zase selektivně inhibuje přežívání DC, na rozdíl od ostatních imunitních buněk (Upham & Stumbles, 2003).

Byl pozorován účinek **analogu vitamínu D** $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na diferenciaci a maturaci DC. Ten částečně inhibuje diferenciaci monocytů v DC v přítomnosti GM-CSF a IL-4, a potlačuje expresi molekul MHC I, MHC II, CD80, CD86, CD40, a CD83 a narušuje stimulační kapacitu DC T-lymfocytů (Piemonti et al., 2000).

Důležitým proteinem, na který je možné cílit, je **NFκB**. Jeden z možných účinků, zmiňovaných výše, je indukce Treg buněk přes inhibici RelB. Dalšími agens, která působí na tento transkripční faktor, jsou např. aspirin, IL-10, vaskulární endoteliální růstový faktor nebo N-acetylcystein (Upham & Stumbles, 2003).

Jak již bylo uvedeno v kapitole 8, ATP a jeho produkty jsou mediátory zhoršující průběh astmatu. Proti tomuto efektu byly navrženy antagonisti **purinergních receptorů**, které při inhalačním podání tyto volné puriny vychytávaly a snižovaly tak pravděpodobnost aktivace DC (Idzko et al., 2007).

12 Závěr

Lidské DC vznikají z CD34⁺ hemotapoetických buněk. *In vivo* jsou ve větší míře přítomné na sliznicích, kde se dostávají do kontaktu s vlastními antigeny, antigeny patogenů a alergenů. To, jak na ně bude imunitní systém reagovat, mnohdy záleží právě na DC. Díky mechanismům, které DC uplatňují, dochází k indukci tolerance přes Treg nebo k indukci odpovědi díky schopnosti polarizovat naivní T-lymfocyty směrem k Th1, Th2, Th9 nebo Th17 odpovědi.

Alergie je neadekvátní reakce na vnější antigen, charakteristická vývojem IgE. Po setkání s alergenem DC preferenčně indukují Th2 odpověď, ale záleží i na okolním mikroprostředí a na další souběžné signalizaci. C lektinové receptory, Fc receptory a jiné povrchové molekuly, jako purinergní receptory dělají z DC potenciální spouštěče alergické odpovědi.

DC kontaktují buňky pomocí přímé interakce nebo nepřímo pomocí produkce cytokinů a chemokinů. Na rozdíl od indukce Th1 odpovědi, kdy DC mohou sekretovat hlavní Th1 cytokin IL-12, nejsou schopné tvořit IL-4, který je důležitý pro izotypový přesmyk imunoglobulinů na IgE. Nepřímo indukují zvýšení koncentrace IL-4, IL-5 a IL-13, přímo se podílí na sekreci GM-CSF, který je důležitý pro diferenciaci granulocytů a makrofágů. Spotřebou tryptofanu z prostředí, který je potřebný pro diferenciaci T-lymfocytů, zastaví jejich proliferaci. K potlačení alergické reakce přímo přispívají také např. expresí inhibiční molekuly ICOSL, jejichž nedostatek může vést k produkci IL-13 a IL-5 T-lymfocyty. DC sekretují IL-18, který působí na bazofily, mastocyty, a eozinofily, které mohou nejen za indukci alergické reakce ale i za chronický průběh. Za zhoršení průběhu může i exprese chemokinů CCL1 DC, pod jehož účinkem dochází k atrakci T-lymfocytů a dalších DC.

DC jsou značně ovlivňované epiteliálními buňkami, které mohou měnit jejich chování. Stimulace epitelu indukuje produkci chemokinů, migraci DC a expresi receptorů a molekul, které na DC mají vliv. Molekula TSLP produkovaná epitelem působí zvýšení exprese molekuly OX40L přítomné na DC, pomocí jejíž signalizace jsou DC schopny indukovat zánětlivý typ Th2 lymfocytů, TSLP také nepřímo vyvolává atrakci lymfocytů pomocí DC. Epitel dýchacích cest produkuje IL-25, jehož signalizace přes receptor IL-25 přítomným na T-lymfocytech, které byly předem aktivované TSLP indukovanou DC, mohou stimulovat expanzi klonů paměťových Th2 lymfocytů a podílí se na chronickém průběhu alergické reakce.

Tato práce se také zaměřovala na rozdíly ve funkci DC zdravých a alergických jedinců. Z publikovaných studií vyplývá, že DC alergických jedinců mají oslabenou funkci sekretovat toleranční cytokin IL-10 a hlavní Th1 cytokin IL-12, což by preferenčně vyvolávalo Th2 odpověď. Další rozdíl spočívá ve větším počtu DC u alergiků, které jsou lepšími buňkami prezentující antigen.

Cílem této práce bylo i shrnout rozdíly mezi nezralým imunitním systémem novorozenců a imunitním systémem dospělých lidí. V porovnání s dospělými dětské DC mají asi do 12 let

sníženou schopnost indukovat Th1 odpověď a dětské období je tak rizikovější pro rozvoj Th2 odpovědi na neškodné stimuly. U novorozenců se DC se nachází ve velice slabě diferencovaném stavu a postrádají mnoho charakteristických povrchových molekul.

Vzhledem k množství mechanismů, které DC uplatňují v průběhu alergické reakce, jsou DC slibným cílem při léčbě alergií. Velice často je cíleno na Fc receptory a protilátky, nebo cytokiny produkované epitelem, které ovlivňují DC. V dnešní době jsou v léčbě úspěšné steroidní látky, které potlačují symptomy a účinné jsou i některá imunosupresiva, která jsou ale více uplatňována při transplantacích. Příznivé výsledky vykazují i studie, které cílí na transkripční faktor NF- κ B, jehož indukce vede k maturaci DC, u pacientů s astmatem byly s úspěchem vyzkoušeny i antagonisté purinergních receptorů. Další výzkum v této oblasti by mohl do budoucna přinést nové efektivní metody aplikovatelné při léčbě alergií.

13 Seznam použité literatury

(sekundární citace jsou označeny *)

- Agrawal, A., & Gupta, S. (2011). Impact of aging on dendritic cell functions in humans. *Ageing Research Reviews*, 10(3), 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2010.06.004>
- Agrawal, A., Agrawal, S., & Gupta, S. (2007). Dendritic cells in human aging. *Experimental Gerontology*, 42(5 SPEC. ISS.), 421–426. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2006.11.007>
- *Aguzzi, A., Kranich, J., & Krautler, N. J. (2014). Follicular dendritic cells: origin, phenotype, and function in health and disease. *Trends Immunol*, 35(3), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.11.001>
- *Amin, K., Janson, C., & Bystrom, J. (2016). Role of Eosinophil Granulocytes in Allergic Airway Inflammation Endotypes. *Scandinavian Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.1111/sji.12448>
- *Angénieux, C., Salamero, J., Fricker, D., Cazenave, J. P., Goud, B., Hanau, D., & De La Salle, H. (2000). Characterization of CD1e, a third type of CD1 molecule expressed in dendritic cells. *Journal of Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007082200>
- Arican, O., Aral, M., Sasmaz, S., & Ciragil, P. (2005). Serum levels of TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators of Inflammation*, 2005(5), 273–279. <https://doi.org/10.1155/MI.2005.273>
- Bäck, O., Blomquist, H. K., Hernell, O., & Stenberg, B. (2009). Does vitamin D intake during infancy promote the development of atopic allergy? *Acta Dermato-Venereologica*, 89(1), 28–32. <https://doi.org/10.2340/00015555-0541>
- Barczyk, A., Pierzcha, W., & Sozańska, E. (2003). Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine. *Respiratory Medicine*, 97(6), 726–733. <https://doi.org/10.1053/rmed.2003.1507>
- Bayry, J., Carbonneil, C., Misra, N., Donkova, V., Pashov, A., Chevailler, A., ... Kaveri, S. V. (2003). Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin. *Blood*, 101(2), 758–765. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-05-1447>. Supported
- Berchtold, S., Ogilvie, A. L. J., Bogdan, C., Mühl-Zürbes, P., Ogilvie, A., Schuler, G., & Steinkasserer, A. (1999). Human monocyte derived dendritic cells express functional P2X and P2Y receptors as well as ecto-nucleotidases. *FEBS Letters*, 458(3), 424–428. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)01197-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)01197-7)
- Berman, B., France, D. S., Martinelli, G. P., & Hass, A. (1983). Modulation of Expression of Epidermal Langerhans Cell Properties Following in Situ Exposure to Glucocorticosteroids. *Journal of Investigative Dermatology*, 80(3), 168–171. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12533397>
- Brehm, J. M., Celedón, J. C., Soto-Quiros, M. E., Avila, L., Hunninghake, G. M., Forno, E., ... Litonjua, A. A. (2009). Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 179(9), 765–771. <https://doi.org/10.1164/rccm.200808-1361OC>
- Cameron, L. A., Taha, R. A., Tsicopoulos, A., Kurimoto, M., Olivenstein, R., Wallaert, B., ... Hamid, Q. A. (1999). Airway epithelium expresses interleukin-18. *European Respiratory Journal*, 14(3), 553–559. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.1999.14c12.x>
- Caux, C., Massacrier, C., Jacquet, C., Imamuraf Daniel Schmitt, S., & Banchereau, J. (1996). CD34 + Hematopoietic Progenitors from Human Cord Blood Differentiate Along Two Independent Dendritic Cell Pathways in Response to GM-CSF+TNF α . *Journal of Experimental Medicine*, 184(August), 695–706. <https://doi.org/10.1084/jem.184.2.695>
- Caux, C., Vanbervliet, B., Massacrier, C., Azuma, M., Okumura, K., Lanier, L. L., & Banchereau, J. (1994). B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 180(5), 1841–1847. <https://doi.org/10.1084/jem.180.5.1841>
- *Cook, P. C., & MacDonald, A. S. (2016). Dendritic cells in lung immunopathology. *Seminars in Immunopathology*, 38(4), 449–460. <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0571-3>
- Corrigan, C. J., Wang, W., Meng, Q., Fang, C., Eid, G., Caballero, M. R., ... Ying, S. (2011). Allergen-induced expression of IL-25 and IL-25 receptor in atopic asthmatic airways and late-phase cutaneous responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 128(1), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.03.043>
- *da Silva, E. Z. M., Jamur, M. C., & Oliver, C. (2014). Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* (Vol. 62). <https://doi.org/10.1369/0022155414545334>

- *Deslée, G. tan, Charbonnier, A.-S., Hammad, H., Angyalosi, G., Tillie-Leblond, I., Mantovani, A., ... Pestel, J. (2002). Involvement of the mannose receptor in the uptake of der p 1, a major mite allergen, by human dendritic cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 110(5), 763–770. <https://doi.org/10.1067/mai.2002.129121>
- Dzionek, A., Fuchs, A., Schmidt, P., Cremer, S., Zysk, M., Miltenyi, S., ... Schmitz, J. (2000). BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 165(11), 6037–46. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.11.6037>
- Eiwegger, T., & Akdis, C. A. (2011). IL-33 links tissue cells, dendritic cells and Th2 cell development in a mouse model of asthma. *European Journal of Immunology*, 41(6), 1535–1538. <https://doi.org/10.1002/eji.201141668>
- Fallarino, F., Grohmann, U., Vacca, C., Bianchi, R., Orabona, C., Spreca, A., ... Puccetti, P. (2002). T cell apoptosis by tryptophan catabolism. *Cell Death and Differentiation*, 9(10), 1069–1077. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401073>
- *Finkelman, F. D., Hogan, S. P., Hershey, G. K. K., Rothenberg, M. E., & Wills-Karp, M. (2010). Importance of cytokines in murine allergic airway disease and human asthma. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 184(4), 1663–1674. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902185>
- Fort, M. M., Cheung, J., Yen, D., Li, J., Zurawski, S. M., Lo, S., ... Rennick, D. M. (2001). IL-25 Induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity*, 15(6), 985–995. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(01\)00243-6](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(01)00243-6)
- Foster, B., Metcalfe, D. D., & Prussin, C. (2003). Human dendritic cell 1 and dendritic cell 2 subsets express FcεpsilonRI: correlation with serum IgE and allergic asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(6), 1132–1138. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.09.011>
- Frischmeyer-Guerrero, P. (2010). Dendritic cell and T cell responses in children with food allergy. ... *Experimental Allergy*, 41(1), 61–71. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03606.x>.Dendritic
- Froidure, A., Shen, C., Gras, D., Van Snick, J., Chanez, P., & Pilette, C. (2014). Myeloid dendritic cells are primed in allergic asthma for thymic stromal lymphopoietin-mediated induction of Th2 and Th9 responses. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 69(8), 1068–1076. <https://doi.org/10.1111/all.12435>
- Frumento, G., Rotondo, R., Tonetti, M., Damonte, G., Benatti, U., & Ferrara, G. B. (2002). Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Journal of Experimental Medicine*, 196(4), 459–468. <https://doi.org/10.1084/jem.20020121>
- Fujino, S., Andoh, A., Bamba, S., Ogawa, A., Hata, K., Araki, Y., ... Fujiyama, Y. (2003). Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*, 52(1), 65–70. <https://doi.org/10.1136/gut.52.1.65>
- Gauvreau, G. M., O'Byrne, P. M., Boulet, L.-P., Wang, Y., Cockcroft, D., Bigler, J., ... Parnes, J. R. (2014). Effects of an anti-TSLP antibody on allergen-induced asthmatic responses. *The New England Journal of Medicine*, 370(22), 2102–10. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1402895>
- Geijtenbeek, T. B. H., Torensma, R., van Vliet, S. J., van Duijnhoven, G. C. F., Adema, G. J., van Kooyk, Y., & Figdor, C. G. (2000a). Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell*, 100(5), 575–585. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80693-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80693-5)
- Geijtenbeek, T. B., Kwon, D. S., Torensma, R., van Vliet, S. J., van Duijnhoven, G. C., Middel, J., ... van Kooyk, Y. (2000b). DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell*, 100(5), 587–597. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80694-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80694-7)
- *Gelfand, E. W. (2004). Inflammatory mediators in allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(5 SUPPL.), 135–138. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.08.043>
- GeurtsvanKessel, C. H., Willart, M. a M., van Rijt, L. S., Muskens, F., Kool, M., Baas, C., ... Lambrecht, B. N. (2008). Clearance of influenza virus from the lung depends on migratory langerin+CD11b- but not plasmacytoid dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(7), 1621–34. <https://doi.org/10.1084/jem.20071365>
- Girotra, V., & Lalkhen, A. G. (2014). Anaphylaxis. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 15(1), 15–19. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2013.11.011>
- Gombert, M., Dieu-Nosjean, M.-C., Winterberg, F., Bünenmann, E., Kubitza, R. C., Da Cunha, L., ... Homey, B. (2005). CCL1-CCR8 interactions: an axis mediating the recruitment of T cells and Langerhans-type dendritic cells to sites of atopic skin inflammation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 174(8), 5082–5091. [https://doi.org/10.1016/S0093-3619\(08\)70010-8](https://doi.org/10.1016/S0093-3619(08)70010-8)
- Grohmann, U., Orabona, C., Fallarino, F., Vacca, C., Calcinaro, F., Falorni, A., ... Puccetti, P. (2002). CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo. *Nature Immunology*, 3(11), 1097–1101. <https://doi.org/10.1038/ni846>

- *Guilliams, M., Bruhns, P., Saeys, Y., Hammad, H., & Lambrecht, B. N. (2014). The function of Fcγ receptors in dendritic cells and macrophages. *Nature Publishing Group, 14*. <https://doi.org/10.1038/nri3582>
- *Hagendorens, M. M., Ebot, D. G., Schuerwegh, A. J., Huybrechts, A., Van Bever, H. P., Bridts, C. H., ... Stevens, W. J. (2003). Differences in circulating dendritic cell subtypes in cord blood and peripheral blood of healthy and allergic children. *Clinical and Experimental Allergy, 33*(5), 633–639. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01649.x>
- Hammad, H., Chieppa, M., Perros, F., Willart, M. A., Germain, R. N., & Lambrecht, B. N. (2009). House dust mite allergen induces asthma via TLR4 triggering of airway structural cells. *Nature Medicine, 15*(4), 410–416. <https://doi.org/10.1038/nm.1946>
- Hirata, J., Kotani, J., Aoyama, M., Kashiwamura, S., Ueda, H., Kuroda, Y., ... Marukawa, S. (2008). A Role for IL-18 in Human Neutrophil Apoptosis. *Shock, 30*(6), 628–633. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e31817c0c69>
- *Holt, P. G. (2004). The role of genetic and environmental factors in the development of T-cell mediated allergic disease in early life. *Paediatr Respir Rev, 5 Suppl A*, S27–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14980239>
- Hyppönen, E., Sovio, U., Wjst, M., Patel, S., Pekkanen, J., Hartikainen, A. L., & Järvelin, M. R. (2004). Infant vitamin D supplementation and allergic conditions in adulthood: Northern Finland birth cohort 1966. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1037*, 84–95. <https://doi.org/10.1196/annals.1337.013>
- Chirido, F. G., Millington, O. R., Beacock-Sharp, H., & Mowat, A. M. (2005). Immunomodulatory dendritic cells in intestinal lamina propria. *European Journal of Immunology, 35*(6), 1831–1840. <https://doi.org/10.1002/eji.200425882>
- Idzko, M., Hammad, H., van, N., Kool, M., Willart, M. A., Muskens, F., ... Lambrecht, B. N. (2007). Extracellular ATP triggers and maintains asthmatic airway inflammation by activating dendritic cells. *Nature Medicine, 13*(8), 913–919. <https://doi.org/10.1038/nm1617>
- Ito, T., Wang, Y. H., Duramad, O., Hori, T., Delespesse, G. J., Watanabe, N., ... Liu, Y. J. (2005). TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper type 2 cell response through OX40 ligand. *The Journal of Experimental Medicine, 202*(9), 1213–1223. <https://doi.org/10.1084/jem.20051135>
- Jahnsen, F. L., Moloney, E. D., Hogan, T., Upham, J. W., Burke, C. M., & Holt, P. G. (2001). Rapid dendritic cell recruitment to the bronchial mucosa of patients with atopic asthma in response to local allergen challenge. *Thorax, 56*(11), 823–6. <https://doi.org/10.1136/thorax.56.11.823>
- Jiang, W., Swiggard, W. J., Heufler, C., Peng, M., Mirza, A., Steinman, R. M., & Nussenzweig, M. C. (1995). The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature, 375*(6527), 151–5. <https://doi.org/10.1038/375151a0>
- Kadowaki, N., Ho, S., Antonenko, S., Malefyt, R. W., Kastelein, R. A., Bazan, F., & Liu, Y. J. (2001). Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *The Journal of Experimental Medicine, 194*(6), 863–9. <https://doi.org/10.1084/jem.194.6.863>
- KleinJan, a, McEuen, a R., Dijkstra, M. D., Buckley, M. G., Walls, a F., & Fokkens, W. J. (2000). Basophil and eosinophil accumulation and mast cell degranulation in the nasal mucosa of patients with hay fever after local allergen provocation. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 106*(4), 677–686. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.109621>
- Knight, D. A., Lim, S., Scaffidi, A. K., Roche, N., Chung, K. F., Stewart, G. A., & Thompson, P. J. (2001). Protease-activated receptors in human airways: Upregulation of PAR-2 in respiratory epithelium from patients with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology, 108*(5), 797–803. <https://doi.org/10.1067/mai.2001.119025>
- Kurt, E., Aktas, A., Aksu, K., Keren, M., Dokumacioglu, A., Goss, C. H., & Alatas, O. (2011). Autologous serum skin test response in chronic spontaneous urticaria and respiratory diseases and its relationship with serum interleukin-18 level. *Archives of Dermatological Research, 303*(9), 643–649. <https://doi.org/10.1007/s00403-011-1144-x>
- Laan, M., Cui, Z. H., Hoshino, H., Lötvall, J., Sjöstrand, M., Gruenert, D. C., ... Lindén, A. (1999). Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways. *Journal of Immunology, 162*(4), 2347–52. Retrieved from <http://www.jimmunol.org/content/162/4/2347.full>
- Labasi, J. M., Petrushova, N., Donovan, C., McCurdy, S., Lira, P., Payette, M. M., ... Gabel, C. a. (2002). Absence of the P2X7 receptor alters leukocyte function and attenuates an inflammatory response. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950), 168*(12), 6436–6445. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.12.6436>
- *Lanzavecchia & Sallusto, F. (2001). Regulation of T cell immunity by dendritic cells. *Cell, 106*, 263–266. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00455-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00455-X)

- Lee, H. C., & Ziegler, S. F. (2007). Inducible expression of the proallergic cytokine thymic stromal lymphopoietin in airway epithelial cells is controlled by NF κ B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(3), 914–919. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607305104>
- León, B., López-Bravo, M., & Ardavin, C. (2007). Monocyte-Derived Dendritic Cells Formed at the Infection Site Control the Induction of Protective T Helper 1 Responses against Leishmania. *Immunity*, 26(4), 519–531. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.01.017>
- Li, D., Romain, G., Flamar, A.-L., Duluc, D., Dullaers, M., Li, X.-H., ... Oh, S. (2012). Targeting self- and foreign antigens to dendritic cells via DC-ASGPR generates IL-10-producing suppressive CD4⁺ T cells. *Journal of Experimental Medicine*, 209(1), 109–121. <https://doi.org/10.1084/jem.20110399>
- Li, H., Chen, J., Huang, A., Stinson, J., Heldens, S., Foster, J., ... Wood, W. I. (2000). Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(2), 773–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.2.773>
- Longphre, M., Li, D., Gallup, M., Drori, E., Ordoñez, C. L., Redman, T., ... Basbaum, C. (1999). Allergen-induced IL-9 directly stimulates mucin transcription in respiratory epithelial cells. *Journal of Clinical Investigation*, 104(10), 1375–1382. <https://doi.org/10.1172/JCI6097>
- Lundequist, A., & Pejler, G. (2011). Biological implications of preformed mast cell mediators. *Cellular and Molecular Life Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0587-0>
- *Ma, D. Y., & Clark, E. A. (2009). The role of CD40 and CD154/CD40L in dendritic cells. *Seminars in Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2009.05.010>
- Maraskovsky, E., Daro, E., Roux, E., Teepe, M., Maliszewski, C. R., Hoek, J., ... McKenna, H. J. (2000). In vivo generation of human dendritic cell subsets by Flt3 ligand. *Blood*, 96(3), 878–884.
- *Mellor, A. L., & Munn, D. H. (1999). Tryptophan catabolism and T-cell tolerance: Immunosuppression by starvation? *Immunology Today*, 20(10), 469–473. [https://doi.org/10.1016/S0167-5699\(99\)01520-0](https://doi.org/10.1016/S0167-5699(99)01520-0)
- *Merad, M., Sathe, P., Helft, J., Miller, J., & Mortha, A. (2013). The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annual Review of Immunology*, 31, 563–604. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074950>
- Müller, T., Vieira, R. P., Grimm, M., Dürk, T., Cicko, S., Zeiser, R., ... Idzko, M. (2011). A potential role for P2X7R in allergic airway inflammation in mice and humans. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 44(4), 456–464. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2010-0129OC>
- Munn, D. H., Shafizadeh, E., Attwood, J. T., Bondarev, I., Pashine, A., & Mellor, A. L. (1999). Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *Journal of Experimental Medicine*, 189(9), 1363–1372. <https://doi.org/10.1084/jem.189.9.1363>
- Piemonti, L., Monti, P., Sironi, M., Fraticelli, P., Leone, B. E., Dal Cin, E., ... Di Carlo, V. (2000). Vitamin D3 affects differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 164(9), 4443–4451. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2175.2000.01164n9p4443.pii>
- Pichavant, M., Charbonnier, A. S., Taront, S., Brichet, A., Wallaert, B., Pestel, J., ... Gosset, P. (2005). Asthmatic bronchial epithelium activated by the proteolytic allergen Der p 1 increases selective dendritic cell recruitment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(4), 771–778. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.043>
- Pilette, C., Detry, B., Guisset, A., Gabriels, J., & Sibille, Y. (2010). Induction of interleukin-10 expression through Fc α receptor in human monocytes and monocyte-derived dendritic cells: role of p38 MAPK. *Immunology and Cell Biology*, 88(4), 486–493. <https://doi.org/10.1038/icb.2009.120>
- Pilette, C., Jacobson, M. R., Ratajczak, C., Detry, B., Banfield, G., Vansnick, J., ... Nouri-Aria, K. T. (2013). Aberrant dendritic cell function conditions Th2-cell polarization in allergic rhinitis. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 68(3), 312–321. <https://doi.org/10.1111/all.12090>
- Prescott, S. L., Pawankar, R., Allen, K. J., Campbell, D. E., Sinn, J. K., Fiocchi, A., ... Lee, B.-W. (2013). A global survey of changing patterns of food allergy burden in children. *The World Allergy Organization Journal*, 6(1), 21. <https://doi.org/10.1186/1939-4551-6-21>
- Qi, S. Y., Groves, J. T., & Chakraborty, A. K. (2001). Synaptic pattern formation during cellular recognition, 2001.
- Rappocciolo, G., Jenkins, F. J., Hensler, H. R., Piazza, P., Jais, M., Borowski, L., ... Rinaldo Jr., C. R. (2006). DC-SIGN is a receptor for human herpesvirus 8 on dendritic cells and macrophages. *J Immunol*, 176(3), 1741–1749. <https://doi.org/10.1093/infdis/jii176>

- Reibman, J., Hsu, Y., Chen, L. C., Bleck, B., & Gordon, T. (2003). Airway epithelial cells release MIP-3 α /CCL20 in response to cytokines and ambient particulate matter. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 28(22), 648–654. <https://doi.org/10.1165/rmb.2002-0095OC>
- Relloso, M., Puig-Kroger, A., Pello, O. M., Rodriguez-Fernandez, J. L., de la Rosa, G., Longo, N., ... Corbi, A. L. (2002). DC-SIGN (CD209) Expression Is IL-4 Dependent and Is Negatively Regulated by IFN, TGF- β , and Anti-Inflammatory Agents. *The Journal of Immunology*, 168(6), 2634–2643. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.6.2634>
- Royer, P.-J., Emara, M., Yang, C., Al-Ghoul, A., Tighe, P., Jones, N., ... Ghaemmaghami, A. M. (2010). The mannose receptor mediates the uptake of diverse native allergens by dendritic cells and determines allergen-induced T cell polarization through modulation of IDO activity. *Journal of Immunology*, 185(3), 1522–31. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000774>
- *Ruiter, B., & Shreffler, W. G. (2012). The role of dendritic cells in food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(4), 921–928. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.01.080>
- Rusznak, C., Sapsford, R. J., Devalia, J. L., Shah, S. S., Hewitt, E. L., Lamont, A. G., ... Lozewicz, S. (2001). Interaction of cigarette smoke and house dust mite allergens on inflammatory mediator release from primary cultures of human bronchial epithelial cells. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 31(2), 226–38. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2001.01000.x>
- Salazar, F., Hall, L., Negm, O. H., Awuah, D., Tighe, P. J., Shakib, F., & Ghaemmaghami, A. M. (2016). The mannose receptor negatively modulates the Toll-like receptor 4-aryl hydrocarbon receptor-indoleamine 2,3-dioxygenase axis in dendritic cells affecting T helper cell polarization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(6), 1841–1851.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.10.033>
- *Salazar, F., Sewell, H. F., Shakib, F., & Ghaemmaghami, A. M. (2013). The role of lectins in allergic sensitization and allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 132(1), 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.02.001>
- Sallusto, B. F., & Lanzavecchia, A. (1994). From the "Basel Institute for Immunology, CH-4005, Basel, Switzerland; and the *Department of Immunology, Istituto Superiore di Sanit , 1-00161, Rome, Italy. *Journal of Experimental Medicine*, 179(April).
- Sallusto, F. (1994). Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor α . *Journal of Experimental Medicine*, 179(4), 1109–1118. <https://doi.org/10.1084/jem.179.4.1109>
- Sanders, N. L., & Mishra, A. (2016). Role of interleukin-18 in the pathophysiology of allergic diseases. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 32, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.07.001>
- *Segura, E., Touzot, M., Bohineust, A., Cappuccio, A., Chiochia, G., Hosmalin, A., ... Amigorena, S. (2008). Human Inflammatory Dendritic Cells Induce Th17 Cell Differentiation. *Immunity*, 38, 336–348. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.10.018>
- Sharief, S., Jariwala, S., Kumar, J., Muntner, P., & Melamed, M. L. (2011). Vitamin D levels and food and environmental allergies in the United States: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005–2006. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(5), 1195–1202. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.017>
- *Shen, C., Hupin, C., Froidure, A., Detry, B., & Pilette, C. (2014). Impaired ICOSL in human myeloid dendritic cells promotes Th2 responses in patients with allergic rhinitis and asthma. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 831–841. <https://doi.org/10.1111/cea.12308>
- Schroeder, J. T., Bieneman, A. P., Chichester, K. L., Hamilton, R. G., Xiao, H., Saini, S. S., & Liu, M. C. (2010). Decreases in human dendritic cell-dependent TH2-like responses after acute in vivo IgE neutralization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(4), 896–901.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.021>
- Siegal, F. P., Kadowaki, N., Shodell, M., Fitzgerald-bocarsly, P. A., Shah, K., & Ho, S. (1999). The Nature of the Principal Type 1 Interferon – Producing Cells in Human Blood. *Science*, 284(June), 1835–1838. <https://doi.org/10.1126/science.284.5421.1835>
- *Simon, A. K., Hollander, G. A., & McMichael, A. (2015). Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc Biol Sci*, 282(1821), pii: 20143085. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3085>
- Skene, A., Ph, D., Steg, P. G., Storey, R. F., & Harrington, R. A. (2009). *New England Journal*, 1045–1057. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810625>
- Soumelis, V., Reche, P. A., Kanzler, H., Yuan, W., Edward, G., Homey, B., ... Liu, Y.-J. (2002). Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nature Immunology*, 3(7), 673–680. <https://doi.org/10.1038/ni805>

- Steinman, B. R. M., Steinman, B. R. M., Swanson, J., & Swanson, J. (1995). Commentary The Endocytic Activity of Dendritic Cells By Ralph M. Steinman* and Joel Swanson~. *Commentary*, 182(August).
- Steinman, B. Y. R. M., & Cohn, Z. A. (1974). Identification of novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice – Functional properties in vitro II. Downloaded from on November 1, 2016, 139.
- Strachan, D. P. (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ : British Medical Journal*, 299(November), 1259–1260. <https://doi.org/10.1136/bmj.299.6710.1259>
- Sun, C.-M., Hall, J. A., Blank, R. B., Bouladoux, N., Oukka, M., Mora, J. R., & Belkaid, Y. (2007). Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *The Journal of Experimental Medicine*, 204(8), 1775–85. <https://doi.org/10.1084/jem.20070602>
- Sung, S. -s. J., Rose, C. E., & Fu, S. M. (2001). Intratracheal Priming with Ovalbumin- and Ovalbumin 323-339 Peptide-Pulsed Dendritic Cells Induces Airway Hyperresponsiveness, Lung Eosinophilia, Goblet Cell Hyperplasia, and Inflammation. *The Journal of Immunology*, 166(2), 1261–1271. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.2.1261>
- Taylor, P. R., Brown, G. D., Reid, D. M., Willment, J. a, Martinez-Pomares, L., Gordon, S., & Wong, S. Y. C. (2002). The β -glucan receptor, dectin-1, is predominantly expressed on the surface of cells of the monocyte/macrophage and neutrophil lineages. *Journal of Immunology*, 169(7), 3876–3882. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.7.3876>
- Terness, P., Bauer, T. M., Röse, L., Dufter, C., Watzlik, A., Simon, H., & Opelz, G. (2002). Inhibition of Allogeneic T Cell Proliferation by Indoleamine 2,3-Dioxygenase-expressing Dendritic Cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 196(4), 447–457. <https://doi.org/10.1084/jem.20020052>
- Tesikova, M. (2010). Mastocytosis. *Dermatologie pro Praxi*, 4(1), 21–24. Retrieved from <http://www.dermatologiepropraxi.cz/artkey/der-201001-0005.php>
- Thompson, A. G., & Thomas, R. (2002). Induction of immune tolerance by dendritic cells: Implications for preventative and therapeutic immunotherapy of autoimmune disease. *Immunology and Cell Biology*. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2002.01114.x>
- *Tschopp, C. M., Spiegl, N., Didichenko, S., Lutmann, W., Julius, P., Virchow, J. C., ... Dahinden, C. A. (2006). Granzyme B, a novel mediator of allergic inflammation: Its induction and release in blood basophils and human asthma. *Blood*. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-010348>
- *Tsicopoulos, A., & Joseph, M. (2000). The role of CD23 in allergic disease. *Clinical and Experimental Allergy*, 30(5), 602–605. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2000.00871.x>
- Upham, J. W., Lee, P. T., Holt, B. J., Heaton, T., Prescott, S. L., Sharp, M. J., ... Holt, P. G. (2002). Development of interleukin-12-producing capacity throughout childhood. *Infection and Immunity*, 70(12), 6583–6588. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.12.6583-6588.2002>
- Upham, J. W., & Stumbles, P. A. (2003). Why are dendritic cells important in allergic diseases of the respiratory tract? *Pharmacology and Therapeutics*, 100(1), 75–87. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(03\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(03)00094-9)
- Valladeau, J., Duvert-Frances, V., Pin, J.-J., Kleijmeer, M. J., Ait-Yahia, S., Ravel, O., ... Saeland, S. (2001). Immature Human Dendritic Cells Express Asialoglycoprotein Receptor Isoforms for Efficient Receptor-Mediated Endocytosis. *The Journal of Immunology*, 167(10), 5767–5774. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.10.5767>
- van den Berge, M., Polosa, R., Kerstjens, H. a M., & Postma, D. S. (2004). The role of endogenous and exogenous AMP in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(4), 737–746. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.05.071>
- van Functional and phenotypic differences of monocyte-derived dendritic cells from allergic and nonallergic patientsden Heuvel, M. M., Vanhee, D. D., Postmus, P. E., Hoefsmit, E. C., & Beelen, R. H. (1998). Functional and phenotypic differences of monocyte-derived dendritic cells from allergic and nonallergic patients. *J Allergy Clin Immunol*, 101(1 Pt 1), 90–5. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70198-8](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70198-8)
- van Rijt, L. S., Jung, S., Kleinjan, A., Vos, N., Willart, M., Duez, C., ... Lambrecht, B. N. (2005). In vivo depletion of lung CD11c+ dendritic cells during allergen challenge abrogates the characteristic features of asthma. *The Journal of Experimental Medicine*, 201(6), 981–991. <https://doi.org/10.1084/jem.20042311>
- Verhaeghe, B., Gevaert, P., Holtappels, G., Lukat, K. F., Lange, B., Van Cauwenberge, P., & Bachert, C. (2002). Up-regulation of IL-18 in allergic rhinitis. *Allergy*, 57(9), 825–30. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2002.23539.x>
- *Voehringer, D. (2009). The role of basophils in helminth infection. *Trends in Parasitology*. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.09.004>

- Wan, H., Winton, H. L., Soeller, C., Tovey, E. R., Gruenert, D. C., Thompson, P. J., ... Robinson, C. (1999). Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *Journal of Clinical Investigation*, 104(1), 123–133. <https://doi.org/10.1172/JCI5844>
- Wang, Y.-H., Angkasekwinai, P., Lu, N., Voo, K. S., Arima, K., Hanabuchi, S., ... Liu, Y.-J. (2007). IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 204(8), 1837–47. <https://doi.org/10.1084/jem.20070406>
- WHO. (2002). Prevention of Allergy and Allergic Asthma. *Management of Noncommunicable Diseases Departement*, (January), 8–9. <https://doi.org/who/nmh/mnc/cra/03.2>
- WHO. (2007). Prevalence of asthma and allergies in children (Fact sheet No 3.1), (11/18/2015), 13–16. Retrieved from http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0012/96996/3.1.pdf?ua=1
- *Willems, F., Vollstedt, S., & Suter, M. (2009). Phenotype and function of neonatal DC. *European Journal of Immunology*, 39(1), 26–35. <https://doi.org/10.1002/eji.200838391>
- Willment, J. A., Lin, H. H., Reid, D. M., Taylor, P. R., Williams, D. L., Wong, S. Y., ... Brown, G. D. (2003). Dectin-1 expression and function are enhanced on alternatively activated and GM-CSF-treated macrophages and are negatively regulated by IL-10, dexamethasone, and lipopolysaccharide. *J Immunol*, 171(9), 4569–4573. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.9.4569>
- Yang, P. C., Xing, Z., Berin, C. M., Soderholm, J. D., Feng, B. S., Wu, L., & Yeh, C. (2007). TIM-4 Expressed by Mucosal Dendritic Cells Plays a Critical Role in Food Antigen-Specific Th2 Differentiation and Intestinal Allergy. *Gastroenterology*, 133(5), 1522–1533. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.08.006>
- Ying, S., O'Connor, B., Ratoff, J., Meng, Q., Mallett, K., Cousins, D., ... Corrigan, C. (2005). Thymic Stromal Lymphopoietin Expression Is Increased in Asthmatic Airways and Correlates with Expression of Th2-Attracting Chemokines and Disease Severity. *The Journal of Immunology*, 174(12), 8183–8190. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.12.8183>
- Zhao, C. Q., Li, T. L., He, S. H., Chen, X., An, Y. F., Wu, W. K., ... Yang, P. C. (2010). Specific immunotherapy suppresses Th2 responses via modulating TIM1/TIM4 interaction on dendritic cells. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 65(8), 986–995. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.02295.x>
- Zhu, X., Meng, G., Dickinson, B. L., Li, X., Mizoguchi, E., Miao, L., ... Blumberg, R. S. (2001). MHC class I-related neonatal Fc receptor for IgG is functionally expressed in monocytes, intestinal macrophages, and dendritic cells. *J Immunol*, 166(5), 3266–3276. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.5.3266>
- Zhu, Z., Homer, R. J., Wang, Z., Chen, Q., Geba, G. P., Wang, J., ... Elias, J. A. (1999). Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *Journal of Clinical Investigation*, 103(6), 779–788. <https://doi.org/10.1172/JCI5909>

Internetové zdroje: <http://clinicalgate.com/antigen-presenting-cells/#f0020> (převzato 20.4.2017)